

Faculté de Médecine LYON SUD

Année 1980 N° 140

ÉTUDE QUANTITATIVE
DE LA Thyroxine - Binding Globulin :
ASPECTS MÉTHODOLOGIQUES.
APPORT DANS LA MALADIE DE BASEDOW.

Thèse

présentée à l'Université Claude Bernard Lyon I
et soutenue publiquement le 22 Avril 1980
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Vandecrème Françoise
ép. Lasne

née le 27 janvier 1949
à Lyon (Rhône)

Faculté de Médecine LYON SUD

Année 1980 N° 140

ÉTUDE QUANTITATIVE

DE LA Thyroxine-Binding Globulin :

ASPECTS MÉTHODOLOGIQUES.

APPORT DANS LA MALADIE DE BASEDOW.

Thèse

présentée à l'Université Claude Bernard Lyon I

et soutenue publiquement le 22 Avril 1980

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Vandecrème Françoise

ép. Lasne

née le 27 janvier 1949

à Lyon (Rhône)

Faculté de Médecine LYON 2ND

Année 1920-1921

ÉTUDE QUANTITATIVE

DE LA THYROXINE - Étude Clinique

ASPECT MÉTHODOLOGIQUE

APPORT DANS LA MALADIE DE BASEDOW



présentée à l'Université Claude Bernard par I
et soumise à l'appréciation de la Faculté le 22 Juin 1921
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

Thèse de Médecine

de la Faculté

le 22 Juin 1921

A Lyon

Université Claude Bernard LYON I

Président : Mr D. GERMAIN, Professeur

Premier Vice-Président : Mr DUFAY, Professeur

Deuxième Vice Président : Mr DUPLAN, Maître Assistant

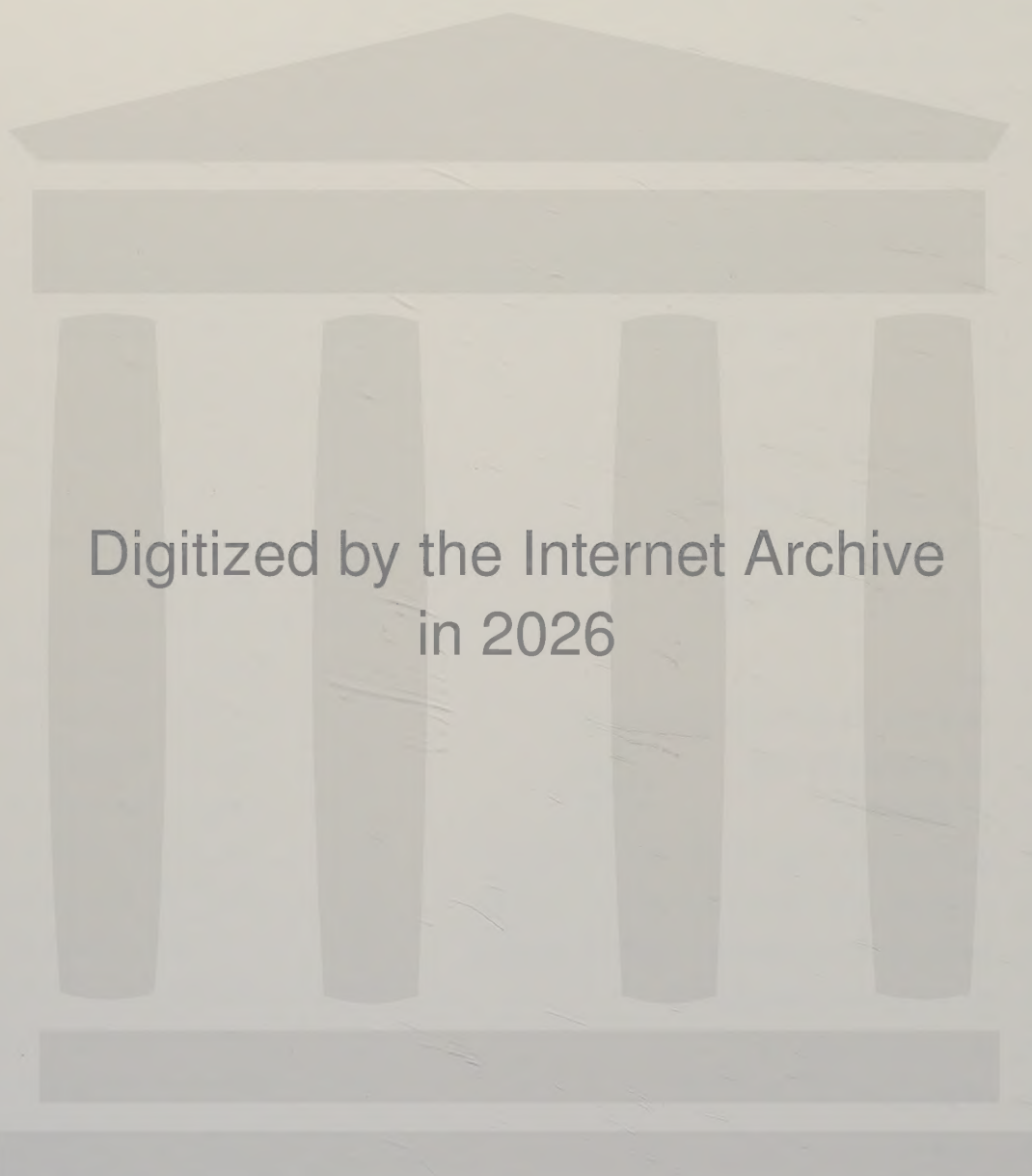
Troisième Vice-Président : Mlle A. ECHALLON, Etudiante

Secrétaire général de l'Université : Mr J. RAMBAUD, Administrateur civil

Unités d'Enseignement et de Recherche (U.E.R.)

U.E.R. FACULTE DE MEDECINE GRANGE-BLANCHE	Mr P. ZECH, Professeur
U.E.R. FACULTE DE MEDECINE ALEXIS CARREL	Mr R. MORNEUX, Professeur
U.E.R. DE MEDECINE LYON NORD	Mr Y. MINAIRE, Maître de Conférences Agrégé
U.E.R. FACULTE DE MEDECINE LYON SUD	Mr J. NORMAND, Professeur
U.E.R. FACULTE DE PHARMACIE	Mr C.A. BIZOLLON, Professeur
U.E.R. FACULTE DES TECHNIQUES DE READAPTATION	Mr A. MORGON, Professeur
U.E.R. DE BIOLOGIE HUMAINE	Mr J.P. REVILLARD, Maître de Conférences Agrégé
U.E.R. E.P.S.	Mr A. MILLON, Professeur d'E.P.S.
U.E.R. FACULTE D'ODONTOLOGIE DE LYON	Mr J. PARRET, Professeur
U.E.R. DE MATHÉMATIQUES	Mr P. PICARD, Professeur
U.E.R. DE PHYSIQUE	Mr J. DELMAU, Professeur
U.E.R. FACULTE DE CHIMIE ET DE BIOCHIMIE	Mme A. VARAGNAT, Maître Assistant
U.E.R. FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE	Mr Y. LEMOIGNE, Professeur
U.E.R. FACULTE DE SCIENCES PHYSIOLOGIQUES	Mlle J.F. WORBE, Professeur
U.E.R. DE PHYSIQUE NUCLEAIRE	Mr M. GUSAKOW, Professeur
U.E.R. DE MECANIQUE	Mlle G. COMTE-BELLOT, Professeur
U.E.R. OBSERVATOIRE DE LYON	Mr G. MONNET, Astronome Adjoint
U.E.R. I.U.T. 1	Mr A. VILLE, Professeur
U.E.R. I.U.T. 2	Mr J. GALLET, Directeur E.N.S.A.M.

à mes parents



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554204_0018

à Yves,

à Maureen et Stanislas

à ma grand-mère,
à toute ma famille,
à mes beaux-parents,
à tous mes amis

A NOTRE MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

Monsieur le Professeur R. CREYSSEL,

Il a bien voulu nous faire l'honneur d'être notre Président de Thèse, et nous l'en remercions.

Nous tenons à lui exprimer ici toute notre gratitude pour l'accueil qu'il nous a réservé dans son laboratoire et pour l'intérêt qu'il a porté à ce travail.

Qu'il nous soit permis de lui exprimer notre profond respect et notre vive gratitude.

A NOS MAÎTRES ET JUGES

Monsieur le Professeur R. MORNEX

Il nous a accueilli avec bienveillance dans son laboratoire où nous avons pris goût à la recherche, et nous fait l'honneur de juger notre travail. Nous le remercions.

Qu'il trouve ici, l'expression de notre très respectueuse considération.

Monsieur le Professeur agrégé F. BERTHEZENE

Il nous a confié le sujet de cette thèse, nous a aidé de ses conseils, guidé dans nos recherches.

Nous sommes très fier qu'il puisse juger notre thèse et nous voudrions ne pas l'avoir déçu.

Qu'il veuille bien trouver dans ce travail, le témoignage de notre respect et de notre gratitude.

Monsieur le Professeur agrégé J. DELAUNAY

Il nous a fait l'honneur de juger notre travail. Qu'il nous soit permis de lui exprimer notre profonde gratitude.

A madame Baumstummeler dont l'expérience et la compétence techniques nous ont beaucoup aidé,
nous la remercions tout particulièrement.

A toute l'équipe du laboratoire des isotopes 21411 M
qui gardera toujours notre sympathie,

Ainsi qu'à celle du laboratoire de Médecine expérimentale
du Professeur Mornex.

Aux docteurs Bonmartin et Mallet,
avec notre amicale reconnaissance.

A mademoiselle Conil, que nous remercions pour l'aide précieuse
qu'elle nous a apportée.

INTRODUCTION

PREMIERE PARTIE : LA TBG ET LES AUTRES PROTEINES PLASMATIQUES DE TRANSPORT DES HORMONES THYROIDIENNES

CHAPITRE I : LE TRANSPORT PLASMATIQUE DES HORMONES THYROIDIENNES

- 1) Historique
- 2) Caractéristiques de la liaison des hormones thyroïdiennes aux protéines de transport
 - a - Généralités
 - b - liaison hormones-TBG
 - (1) liaison de la thyroxine par la TBG
 - (2) liaison de la triiodothyronine par la TBG
 - c - liaison hormones-TBPA
 - (1) liaison de la thyroxine par la TBPA
 - (2) liaison de la triiodothyronine par la TBPA
 - d - liaison hormones-albumine.

CHAPITRE II : STRUCTURE, CARACTERES PHYSICOCHIMIQUES, METABOLISME ET ROLE DE LA TBG

- 1) Structure et caractères physicochimiques de la TBG
- 2) "Slow-moving" TBG
- 3) Métabolisme de la TBG
- 4) Rôle de la TBG

CHAPITRE III : MOYENS D'ETUDE DE LA LIAISON DES HORMONES THYROIDIENNES PAR LA TBG. TESTS ET DOSAGES UTILISES EN CLINIQUE.

- 1) Tests de captation et ITL.
- 2) Capacité maximum de fixation de la TBG.
- 3) Dosage de la TBG. Rapport T4/TBG

CHAPITRE IV : MODIFICATIONS DE LA LIAISON DES HORMONES THYROIDIENNES PAR LA TBG

- 1) Modifications primaires de la TBG
 - a - augmentation de la concentration plasmatique de la TBG
 - b - diminution de la concentration plasmatique de TBG

- 2) Modifications de la production hormonale
 - a - hypoproduction hormonale
 - b - hyperproduction hormonale
- 3) La TBG lors de pathologie thyroïdienne

DEUXIEME PARTIE : TRAVAUX PERSONNELS

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES

- 1) Dosage plasmatique de la TBG
 - a - principe du dosage
 - b - réalisation du dosage
- 2) Détermination de la capacité maximum de fixation (CF) de la TBG pour la thyroxine.
 - a - principe de cette détermination
 - b - principe de l'électrophorèse à contre-courant
 - c - produits et matériel utilisés
 - d - réalisation
 - e - détermination de la CF de la TBG plasmatique d'un sujet témoin
- 3) Autres paramètres déterminés.

CHAPITRE II : RESULTATS

- 1) Sujets euthyroïdiens
 - a - étude des taux plasmatiques de TBG
 - b - étude corrélative des taux plasmatiques de TBG avec les taux plasmatiques de T3 et T4.
 - c - évaluation du rapport T4/TBG chez le sujet euthyroïdien
- 2) Sujets hyperthyroïdiens
 - a - comparaison des taux plasmatiques de TBG chez les sujets euthyroïdiens et hyperthyroïdiens
 - b - étude de la variation des taux de TBG chez 10 sujets hyperthyroïdiens avant et après traitement
 - c - étude corrélative des taux plasmatiques de TBG avec les taux plasmatiques de T3 et T4 chez les sujets hyperthyroïdiens avant et après traitement.
 - d - étude de la corrélation ITL - T4/TBG chez les sujets euthyroïdiens et hyperthyroïdiens.
 - e - comparaison des valeurs discriminantes de l'ITL et du rapport T4/TBG entre eu et hyperthyroïdie.

- f - comparaison de la variation des taux plasmatiques de T3 et T4 à celle des taux de TBG chez l'hyperthyroïdien après traitement.
- g - comparaison de la variation des taux de protéines totales à celle des taux de TBG des sujets hyperthyroïdiens après traitement.
- h - comparaison de la variation de l'ITL et du test triosorb à celle des taux de TBG chez les sujets hyperthyroïdiens après traitement.
- i - étude de la capacité de fixation maximum de TBG chez cinq sujets hyperthyroïdiens avant et après traitement. Comparaison des taux de TBG obtenus par méthode indirecte (CF) à ceux obtenus par méthode directe (RIA).

CHAPITRE III : DISCUSSION

CONCLUSIONS

ABBREVIATIONS UTILISEES

=====

ou

TBG	Thyroxine-binding globulin
STBG	Slow moving thyroxine-binding globulin
TBPA	Thyroxine-binding prealbumin
TBA	Thyroxine-binding albumin
T4	3,5,3',5' tetraiodothyronine : thyroxine
T3	3,5, 3' triiodothyronine
F T4	free T4
F T 3	free T3
ITL	Indice de thyroxine libre
FTI	free thyroxine index
RIA	Radioimmunologie assay : dosage radioimmunologique
CLBA	Competitive ligand binding assay : dosage par compétition
CF	Capacité maximum de fixation
cpm	Coup par minute

Il est généralement admis que seule la fraction libre des hormones thyroïdiennes circulant dans le plasma, agit au niveau des récepteurs périphériques. Cette fraction libre représente environ 0,03 à 0,05 % de la thyroxine et 0,3 % de la triiodothyronine plasmatiques. Ces hormones sont en effet pour leur presque totalité, liées à un système de trois protéines dont la plus importante est la thyroxine-binding globulin, (TBG). L'activité hormonale dépendra donc d'une part, des taux de T3 et T4 circulantes, et d'autre part, de la concentration plasmatique des protéines de transport et de leur affinité pour ces hormones.

Lors d'hyperthyroïdie, les taux de TBG apparaissent selon les auteurs, tantôt normaux tantôt abaissés, ce qui, dans ce dernier cas, concourrait à l'augmentation de la fraction libre hormonale. Cette divergence des résultats peut s'expliquer par l'existence d'une grande dispersion des taux de TBG chez les sujets euthyroïdiens, rendant aléatoire la mise en évidence d'une diminution peu importante de ces taux lors d'hyperthyroïdie.

Aussi avons-nous entrepris d'étudier l'évolution des taux plasmatiques de TBG chez un groupe de sujets atteints de maladie de Basedow en comparant pour chaque individu les valeurs obtenues avant et après guérison obtenues par traitement médical et/ou chirurgical.

Après un rappel théorique sur les protéines de transport plasmatique des hormones thyroïdiennes, nous exposons les résultats de cette étude comparative.

P R E M I E R E P A R T I E

LA TBG ET LES AUTRES PROTEINES PLASMATIQUES DE TRANSPORT
DES HORMONES THYROIDIENNES

LE TRANSPORT PLASMATIQUE DES HORMONES THYROIDIENNES1) HISTORIQUE

Les premiers travaux concernant le transport plasmatique des hormones thyroïdiennes datent de 1939. A cette époque, TREVORROW (101) montra que la thyroxine du plasma ne dialysait pas et précipitait avec les protéines auxquelles elle apparaissait donc liée.

En 1952, GORDON et COLL (23) soumettant à une électrophorèse sur papier le plasma de sujets traités par l' ^{131}I , montrèrent que la radioactivité correspondant à la thyroxine endogène marquée par l'iode administré, se retrouvait au niveau des α_2 globulines. L'électrophorèse sur papier de plasma additionné de T4 marqué à l' ^{131}I réalisée par LARSON et COLL (45) confirma ces résultats. Il fut ensuite rapidement précisé que cette protéine migrait à pH alcalin dans la zone inter α_1 globulines, d'où son nom de "thyroxine binding inter α_1 globulin" : TBG.

En 1958, INGBAR (37) utilisant un tampon trismaléate, montra que la thyroxine apparaissait liée à une protéine migrant en position anodique par rapport à l'albumine et qui reçut le nom de Thyroxine-binding prealbumin : TBPA.

Enfin, la liaison de l'hormone à l'albumine (thyroxine-binding albumin : TBA) fut mise en évidence par les précédents auteurs mais apparaissait quantitativement beaucoup moins importante que celle concernant la TBG et la TBPA.

2) CARACTERISTIQUES DE LA LIAISON DES HORMONES THYROIDIENNES AUX PROTEINES DE TRANSPORT

a - Généralités

L'aptitude d'une protéine de transport "P" à fixer dans le plasma une hormone H, dépend essentiellement de deux facteurs : la concentration plasmatique de la protéine et la constante d'affinité de la réaction de fixation de l'hormone : K.

Cette réaction de fixation est réversible, elle peut être schématisée de la façon suivante :



Cette réaction obéit à la loi d'action de masse et à l'équilibre s'établit la réaction :

$$K = \frac{[H - P]}{[H] \cdot [P]}$$

dans laquelle K désigne la constante d'affinité de la réaction ,

[H], la concentration molaire d'hormone libre,

[P], la concentration molaire des sites de liaison libres sur les protéines,

[H - P], la concentration molaire des sites de liaison occupés par l'hormone sur les protéines.

Pour la TBG, si la concentration plasmatique est faible, de l'ordre de 10 à 40 mg/l la constante d'affinité est grande, de l'ordre de 10^{10} moles⁻¹ pour la réaction de fixation de la thyroxine et de 10^8 moles⁻¹ pour celle de la triiodothyronine. Les valeurs élevées de ces constantes d'affinité, font que la TBG constitue la principale protéine de transport des hormones thyroïdiennes chez l'homme.

Il est généralement admis que 60 % de la T₄ sont liés à la TBG, environ 30 % à la TBPA, le reste à l'albumine, l'affinité de la T₄ étant maximum pour la TBG, moins marquée pour la TBPA et faible pour l'albumine qui, malgré sa concentration plasmatique importante, reste une protéine de transport mineure. Cette liaison protéique concerne environ 99,95 % de la thyroxine plasmatique.

La T₃ est, elle aussi, transportée en premier lieu par la TBG qui en fixe environ 65 % mais l'affinité de cette protéine est de 2 à 20 fois moins grande pour T₃ que pour T₄.

Il a longtemps été admis que la T3 ne se fixait pas sur la préalbumine, en fait cette protéine présente vis à vis de l'hormone une affinité voisine de celle de l'albumine, qui est à une concentration plasmatique 200 fois supérieure de sorte que, dans le plasma, la T3 non liée à la TBG se fixe sur l'albumine. Cependant, en l'absence d'albumine, la TBPA peut, elle aussi, fixer la T3. Cette liaison protéique concerne environ 99,7 % de la T3 plasmatique.

Les concentrations plasmatiques des différentes protéines de transport figurent dans le tableau I.

PROTEINES	CONCENTRATION PLASMATIQUE (mg/l)
TBG	De l'ordre de : 10 à 40
TBPA	De l'ordre de : 300
Albumine	De l'ordre de : 50×10^3

TABLEAU I
CONCENTRATION PLASMATQUES DES PROTEINES DE TRANSPORT
DES HORMONES THYROIDIENNES

La répartition des hormones thyroïdiennes sur les trois protéines de transport, est schématisé dans la figure 1.

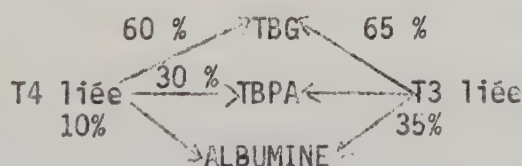


FIGURE 1
REPARTITION DES HORMONES THYROIDIENNES SUR LES PROTEINES
DE TRANSPORT DANS LE PLASMA.

Proportions d'hormones libres (F T4 et F T3) :

$$\frac{F T4}{T4 \text{ TOTALE}} = 0,05 \%$$

$$\frac{F T3}{T3 \text{ TOTALE}} = 0,3 \%$$

Il faut noter que des α_1 et β lipoprotéines transportent des quantités mineures de T4. Leur rôle physiologique n'est pas connu actuellement. (MIYAI et COLL (59) HOCH et LEWALLEN (34) ITOH et COLL (39).

b - Liaison hormones - TBG

Les paramètres caractérisant la liaison d'une hormone à sa protéine de transport sont, d'une part, n, le nombre de sites de fixation qu'une molécule de protéine présente vis à vis de l'hormone et, d'autre part, K, la constante d'association de la réaction de fixation protéine - hormone.

Un moyen d'approche des paramètres de liaison consiste à évaluer la capacité maximum de fixation (CF) de la protéine c'est à dire le produit $n \times C_p$, C_p étant la concentration molaire de la protéine.

Cette capacité de fixation s'exprime généralement en quantité d'hormone fixée sur la protéine à saturation pour un volume plasmatique donné, ainsi pour la TBG, en μg de T3 de T4/100 ml de plasma.

(1) Liaison de la thyroxine par la TBG

Les paramètres concernant la liaison T4 - TBG ont fait l'objet de très nombreux travaux utilisant des méthodes directes et indirectes. Dans les méthodes indirectes, les auteurs, lorsqu'ils travaillent sur des préparations de TBG, après avoir mesuré la capacité maximum de fixation pour la T4 de la protéine, et sa masse molaire, en déduisent $n = \frac{CF}{C_p}$.

La constante d'affinité K est obtenue par comparaison avec celle des systèmes

T4 - TBPA ou T4 - albumine. Le nombre de sites de liaison peut aussi se déduire de la capacité de fixation de TBG dans le sérum, en fixant arbitrairement le poids moléculaire de la protéine.

Les méthodes directes consistent à mesurer les concentrations libres et liées de thyroxine, soit par fluorescence, soit par ultrafiltration (directe ou à volume constant) et dialyse et à tracer l'isotherme de liaison.

Le tableau II regroupe différents résultats concernant la détermination de n et K. Exceptés TABACHNICK et KORCEK (98) qui ont trouvé deux sites distincts, les auteurs n'ont mis en évidence qu'une seule catégorie de sites fixant la T4 sur la TBG et il est actuellement bien admis que la TBG ne porte qu'un seul site de fixation de la T4 par molécule.

Par contre, il existe une assez grande divergence des résultats concernant la constante d'association qui varie suivant les auteurs de $0,2$ à $2,8 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$.

(2) Liaison de la triiodothyronine par la TBG

L'affinité de la TBG pour la T3 est très inférieure à celle qu'elle présente vis à vis de la T4.

Les travaux concernant les paramètres de liaison T3 - TBG sont moins nombreux et aboutissent à des résultats très divergents.

Trois déterminations de la capacité maximum de fixation pour la T3 de la TBG réalisées par électrophorèse à pH 8, 6, figurent dans le tableau III.

	CF (μg T3 / 100 ml de plasma)
MYANT et OSORIO (60)	35
VILLE (104)	24,7
ITOH et COLL (39)	14

TABEAU III

CAPACITE DE FIXATION DE LA TBG POUR T3. DETERMINATION A pH 8, 6.

AUTEURS	NOMBRE DE SITES n	CONSTANTE D'ASSOCIATION $K \times 10^{10}$	pH	MODE DE DETERMINATION
ROBBINS et RALL 1957, 1960 (84) (85)	1	0,79	8,6	indirect
OPPENHEIMER et SURKS 1964 (69)	1	0,823		indirect
WOEBER et INGBAR 1968 (106)	1	1,7		indirect
GIORGIO et TABACHNICK 1968 (21)	1	0,2	9	indirect
KEANE et COLL 1969 (41)	-	0,9	7,4	direct
HAMADA et COLL 1970 (29)	1	2,2	8,6	indirect
STERLING et COLL 1971 (95)	1	1	8,6	indirect
MARSHALL et PENSKEY 1971 (55)	1 à 1,2	-	6,4 à 8,75	direct
GREEN, MARSHALL, PENSKEY, STANBURY 1972 (25)	0,85	2,3	7,3	direct
BESNARD 1972 (2)	1	2,84	8,6	direct
MARSHALL, PENSKEY, GREEN 1972 (56)	0,85	2,35	7,3	direct
ELEWAUT 1973 (16)	1,4 (*)	0,75 (4°C) 0,21 (24°C)	7,4	direct
NILSSON et PETERSON 1975 (63)	0,95	0,6	7,4	direct
TABACHNICK, KORCEK, PARL 1975 (98)	$\begin{bmatrix} 0,4 \\ 1 \end{bmatrix}$ (**)	$\begin{bmatrix} 0,3 \\ 0,01 \end{bmatrix}$	7,4	direct
CAVALIERI et COLL 1975 (9)	0,85	-	8,3	
REFETTOFF et COLL 1975 (77)	0,96	-	9,6	
KORCEK et TABACHNICK 1976 (43)	1	1,55	7,4	direct
SNYDER et COLL 1976 (93)	-	0,25	7,4	direct
LECUREUIL et COLL 1978 (50)	1	0,4		direct

(*) Nombre de sites calculé à partir de la capacité de liaison en admettant que la concentration en TBG dans le sérum est de 15 mg/1 et que sa masse molaire est égale à 60 000.

(**). Paramètre de deux catégories de sites mises en évidence par ces auteurs.

TABLEAU II = Paramètres de la liaison TBG - T4 d'après LECUREUIL et COLL (49)

D'après les résultats de VILLE (104) la capacité de fixation de la TBG pour la T3 est de $2,28 \times 10^{16}$ molécules pour 100 ml de plasma, alors que pour la T4, elle n'est que de $1,27 \times 10^{16}$, ce qui semblerait donc montrer que la TBG fixe approximativement 2 molécules de triiodothyronine pour 1 de thyroxine.

Les résultats concernant le nombre de sites de fixation, sont eux aussi variables certains auteurs n'ont mis en évidence qu'une seule catégorie de sites, d'autres deux.

La constante d'association K du site unique, ou du site primaire pour les auteurs ayant mis en évidence deux catégories de sites, apparaît 2 à 30 fois inférieure à celle concernant la T4.

Différents résultats concernant n et K sont regroupés dans le tableau IV. Le nombre de sites de liaison n étant généralement trouvé égal pour T4 et T3, et la T4 déplaçant facilement la T3 liée à la TBG, il est permis de supposer que les sites liant ces deux hormones sont les mêmes.

Cependant, si, comme l'ont trouvé certains auteurs, la TBG présente deux catégories de sites pour la T3, et ceci est en accord avec certaines déterminations de la capacité de fixation ^{pour cette hormone} sur la TBG ne saurait être totale. Les déterminations effectuées en considérant cette compétition comme totale (test d'HAMOLSKY et dérivés) seraient donc systématiquement faussées.

c) Liaisons hormones - TBPA

(1) Liaison de la thyroxine par la TBPA

La préalbumine a été purifiée dès 1975 et a fait l'objet de nombreux travaux. Outre la thyroxine, cette protéine fixe également le rétinol-binding protéin (RBP) formant ainsi un complexe protéine-protéine.

AUTEURS	NOMBRE DE SITES	CONSTANTE D'ASSOCIATION K X 10 ⁸	p H
MARSHALL ET COLL 1972 (23)	0,91	non donnée	7,3
NISSON et PETERSON 1975 (62)	0,95	5	7,4
TABACHNICK, KORCEK et PARL 1975 (97)	$\begin{bmatrix} 0,6 \\ 1 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 3,5 \\ 0,1 \end{bmatrix}$	7,4
KORCEK et TABACHNICK 1976 (42)	$\begin{bmatrix} 1,04 \\ 0,77 \end{bmatrix}$ ou $\begin{bmatrix} 1 \\ 0,72 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 6,5 \\ 0,43 \end{bmatrix}$ $\begin{bmatrix} 6,12 \\ 0,73 \end{bmatrix}$	7,4

TABLEAU IV

PARAMETRES DE LA LIAISON TBG - T3 D'APRES LECUREUIL ET COLL (49).

Certains auteurs tels RAZ et GOODMAN (76), en 1969, ou PAGES et COLL (70) en 1973 et LECUREUIL et COLL (50) en 1978, n'ont mis en évidence qu'une seule catégorie de sites de fixation de la thyroxine sur la molécule de TBPA.

La valeur de la constante d'association du site unique de fixation de la TBPA pour la T4, déterminée par LECUREUIL et COLL (50) a été trouvée égale à $1,7 \times 10^8$.

En 1971, NILSSON et PETERSON (63) ont déterminé le nombre de sites de fixation par deux méthodes différentes : par extinction de la fluorescence du tryptophane, ils n'ont mis en évidence qu'une seule catégorie de sites pour T4 et T3 ayant des affinités respectives de $1,1 \times 10^7$ et $1,3 \times 10^6$; par dialyse à l'équilibre, ils ont trouvé un site ayant une forte affinité pour T4 et 3 autres sites d'affinité très inférieure.

FERGUSON (17) en 1975, étudiant la liaison compétitive de la thyroxine et de l'acide anilidonaphtalène sulfonique (ANS) à la préalbumine humaine, mit en évidence deux catégories de sites pour T4 sur la molécule de TBPA.

(2) Liaison de la triiodothyronine par la TBPA.

On a cru longtemps que l'affinité de la TBPA pour T3 était nulle. On a vu qu'en fait l'absence de fixation de T3 chez l'homme sur la TBPA était due à la forte concentration sérique de l'albumine qui, ayant une affinité pour cette hormone voisine de celle de la TBPA, fixe T3 aux dépens de cette dernière.

L'affinité de la TBPA pour T3 représente environ 8 à 12 % de celle qu'elle manifeste pour T4.

d) Liaison hormones-albumines.

L'albumine ne constitue qu'une protéine mineure en tant que transporteur des hormones thyroïdiennes, du moins en ce qui concerne T4, aussi n'a-t-elle pas fait l'objet de nombreux travaux.

Il a été montré par STERLING (96) que l'albumine présente un seul site de liaison fixant fortement la thyroxine avec une constante d'association de 5×10^5 , à côté de plusieurs sites de faible affinité.

TABACKNICK (97) a mis en évidence deux sites de liaison ayant des constantes d'association voisines de $2,75 \times 10^5$ et 6 sites de faible affinité.

TRITSCH (102) n'a trouvé qu'un seul site de fixation avec une constante d'affinité de $2,5 \times 10^6$ et 5, ou plus, sites de faible affinité.

STEINER et COLL (94) ont montré que l'albumine humaine aussi bien que bovine possédait, à côté de plusieurs sites moins actifs, un site de fixation de la T4 ayant une constante d'association relativement élevée de l'ordre de $1,6 \times 10^6$.

BESNARD (2) en 1978 a mis en évidence deux sites de fixation de la thyroxine sur l'albumine avec une constante d'affinité de $0,375 \times 10^6$.

L'affinité de l'albumine pour T3 représente environ 1/6 de celle qu'elle manifeste pour T4.

CHAPITRE II

STRUCTURE, CARACTERES PHYSICOCHIMIQUES, METABOLISME ET ROLE DE LA TBG

1) STRUCTURE ET CARACTERES PHYSICOCHIMIQUES DE LA TBG

La TBG est une glycoprotéine migrant à l'électrophorèse en position inter α globulinique.

La fraction glucidique représente selon les auteurs, 7,5 % à 32 % de la molécule. Sa composition en sucres est très différente d'un auteur à un autre. Le tableau V regroupe quelques résultats.

Curieusement, la molécule de TBG, pour NILSSON et PETERSON (3) ne comporterait pas d'acide sialique, ce qui, d'une part, s'oppose aux résultats de tous les auteurs, et d'autre part, semble infirmé par la mise en évidence d'une forme désialisée de TBG chez certains malades hépatiques ou obèses. (cf. S TBG et métabolisme de la TBG)

De même, il existe d'importantes divergences en ce qui concerne la composition en acides aminés de la fraction protéique. Différents résultats figurent dans le tableau VI.

Pour NILSSON et PETERSON (63) la molécule de TBG serait formée de quatre sous-unités identiques. Par contre, pour KORCEK et TABACHNICK (42) puis GERSCHENGORN (18) elle serait constituée d'une seule chaîne polypeptidique.

Les résultats concernant le poids moléculaire de la TBG, exceptés ceux de STERLING (95), sont assez concordants, tous le situent entre 50 et 60 000. Son pHi varie selon les auteurs de 3,8 à 5,2.

Le tableau VII regroupe différents résultats concernant PM et pHi de la TBG.

	STERLING ET COLL (95) Résidu/Mole	GIORGIO et TABACHNICK (21) Résidu/Mole	SEAL et DOE (92) Résidu/Mole	KORCEK et TABACHNICK(42) Résidu/Mole	NILSSON et PETERSON(63) Résidu/Mole	GERSHENGORN et COLL Résidu/Mole
HEXOSES NEUTRES	FUCOSE XYLOSE MANNOSE GALACTOSE GLUCOSE	0 1 5 6 2	14 19 56 24 Traces	0 0 12,17 5,84 2,02	0 8 16 8	0 6 13 6 25
HEXOSAMINE	GLUCOSAMINE GALACTOSAMINE	11 11 0	15 15 3	12,37 4,47	8 8 0	22 22 0
ACIDE SIALIQUE		4	5	9	6,23	10

TABLEAU V

COMPOSITION EN SUCRES DE LA TBG D'APRES LECUREUIL ET COLL (48)

	STERLING et COLL (95) Résidus/Mole	GIORGO et TABACHNICK(21) Résidus/Mole	SEAL et DOE (92) Résidus/Mole	KORCEK et TABACHNICK(42) Résidus/Mole	NILSSON et PETERSON (63) Résidus/Mole	GERSHENGORN et COLL (18) Résidus/Mole
LYSINE	18	25	12	22,49	28	28
HISTIDINE	7	10	11	13,94	12	11
ARGININE	4	16	22	15,96	16	6
ACIDE ASPARTIQUE	26	38	25	41,64	44	36
THREONINE	20	25	18	25,69	28	25
SERINE	24	34	19	31,64	48	29
ACIDE GLUTAMIQUE	30	52	34	62,91	60	42
PROLINE	16	30	27	29,48	20	15
GLYCINE	23	25	25	32,37	28	19
ALANINE	32	31	27	34,80	28	28
1/2 CYSTEINE	3	8	5	10,63	8	5
VALINE	21	23	12	26,75	24	27
METHIONINE	6	5	3	10,56	8	12
ISOLEUCINE	12	9	8	18,54	16	18
LEUCINE	28	44	43	46,81	36	38
NORLEUCINE	0	0	0	0	0	0
TYROSINE	4	10	7	11,62	16	9
PHENYLALANINE	12	18	14	22,49	16	22
TRYPTOPHANE	3	4	4	non déterminé	4	4
NOMBRE DE RESIDUS	289	407	316	458,32	440	374
MASSE MOLAIRE	36 000	58 000	59 000		53 200	54 000

TABLEAU VI

COMPOSITION EN ACIDES AMINES DE LA TBG D'APRES LECUREUIL ET COLL (48).

MASSE MOLAIRE	:	40 - 50 000	:	TATA (100)
	:	50 000	:	: PETERMANN et COLL (73)
	:	50 000	:	: SEAL et DOE (91)
	:	50 - 59 000	:	: SEAL et DOE (98)
	:	58 000	:	: GIORGIO et TABACHNICK (21)
	:	54 000	:	: MARSHALL et PENSKY (54)
	:	63 - 65 000	:	: MARSHALL et PENSKY (55)
	:	60 000	:	: LEVY et COLL (52)
	:	36 500	:	: STERLING et COLL (95)
	:	55 000	:	: HAO et TABACHNICK (31)
	:	54 - 55 000	:	: NILSSON et PETERSON (63)
pH _i	:	4,5	:	: ROBBINS et COLL (83)
	:	4,0	:	: ROCHE et COLL (87)
	:	3,8	:	: STERLING et COLL (95)
	:	4,2 - 5,2	:	: MARSHALL et COLL (57)
	:	4,15 - 4,45	:	: PETEK (72)
	:	4,2 - 5	:	: LASNE et COLL (46)
	:		:	:

TABEAU VII

MASSE MOLAIRE et pH_i DE LA TBG D'APRES LECUREUIL ET COLL (48)

L'électrofocalisation en gel de polyacrylamide d'une préparation de TBG, réalisée par MARSHALL et COLL (57) révèle une microhétérogénéité de la TBG qui existerait dans le plasma sous forme d'une population de protéines ayant les mêmes propriétés immunologiques, ne différant entre elles que par quelques acides aminés, et dont la distribution chez un individu donné serait déterminée génétiquement.

Ces auteurs ont ainsi mis en évidence neuf bandes au moins de protéines correspondant à la TBG et dont les pHi sont compris entre 4,2 et 5,2.

Plus récemment, PETEK (72) toujours par électrofocalisation, a mis en évidence 3 bandes protéiques dont les pHi se situent entre 4,15 et 4,45.

Cependant, il faut noter que tous ces résultats ont été obtenus à partir de préparations de TBG posant ainsi le problème d'une éventuelle dénaturation de la protéine.

Nous avons, pour notre part, mis au point une nouvelle technique de radioprint immunofixation, permettant d'étudier la TBG directement dans le sérum sans avoir à la purifier. Nous avons ainsi montré après électrofocalisation en gel de polyacrylamide que cette protéine était constituée d'au moins 7 bandes de pHi compris entre 4,2 et 5. De plus, outre la microhétérogénéité de la TBG, nous avons mis en évidence l'existence d'un polymorphisme de cette protéine qui présente deux aspects différents selon les sujets. (LASNE et Coll. (46))

2) SLOW MOVING TBG

Depuis l'identification des trois protéines de transport des hormones thyroïdiennes plusieurs publications avaient fait mention de l'existence d'une quatrième protéine fixant la thyroxine et ayant une mobilité électrophorétique (à pH 7,4 ou 8,6) plus faible que celle de la TBG.

Plusieurs hypothèses concernant l'origine et le rôle de cette protéine qui n'apparaissait que dans certains plasmas, avaient été avancées : artefact dû à une longue conservation au froid des sérums ou formation de complexes TBG - albumine (BLUMBERG et ROBBINS (5) et (6)).PREMACHANDRA, PERLSTEIN et BLUMENTHAL (74) observant la présence de cette protéine dans les sérums de certains sujets obèses, émirent l'hypo-

thèse qu'elle pouvait résulter d'une désialidation in vivo de la TBG.

En 1972, lors de chromatographies d'affinité sur colonnes de sépharose, réalisées pour purifier la TBG, MARSHALL, PENSKEY et GREEN (56) isolèrent une protéine ayant le même poids moléculaire et les mêmes caractères antigéniques que la TBG, mais une mobilité électrophorétique (sur acétate de cellulose) diminuée, d'où son nom de : "SLOW MOVING TBG", S. TBG.

Cette protéine ne comportait que le quart de la quantité d'acide sialique normalement présente dans la TBG et provenait, selon ses auteurs, de la désialidation in vitro de la TBG par une neuraminidase adsorbée sur le sépharose et provenant soit directement des nombreux plasmas passés sur la colonne, soit d'une contamination bactérienne.

D'après ces mêmes auteurs, la molécule de S TBG porterait comme la TBG, 1 site de fixation pour la thyroxine, mais aurait une constante d'association 10 fois plus faible que celle de la TBG.

En 1975, REFETOFF et coll (77) ont montré à leur tour que l'affinité de la S TBG pour la T4 était inférieure à celle de la TBG, mais que le nombre de sites de fixation de l'hormone était identique pour les deux protéines.

La S TBG peut être mise en évidence dans certains plasmas de sujets normaux, elle se trouve alors en quantité minime, ou en grande quantité dans des plasmas provenant de sujets présentant d'importantes atteintes hépatiques. En effet, chez le sujet normal, la TBG lorsqu'elle est désialidée, est rapidement captée par le foie, et en cas de lyse hépatique pourrait donc être déversée dans le sang. Cependant, il est aussi possible d'imaginer que la présence de S TBG dans le sérum de malades hépatiques s'explique par un défaut de synthèse de la TBG puisqu'elle s'effectue au niveau du foie.

La désialidation de la TBG en S TBG, in vivo, pourrait être la première étape de son catabolisme.

3) METABOLISME DE LA TBG

Différentes études concernant les déficits (ou augmentations) congénitaux en TBG, ont conclu à une transmission gonosomique liée à l'X de ce caractère (REFETOFF (78)) (MARSHALL et COLL (53))

Cependant d'autres études semblent avoir mis en évidence une transmission autosomique dominante de ce caractère. NUSYNOWITZ ET COLL (65) LAMBERTS ET COLL (44).

Jusqu'en 1976, on pensait sans en avoir fourni de preuves directes, que la TBG comme de nombreuses autres protéines plasmatiques était synthétisée au niveau du foie. GLINDER et coll. (22) démontrèrent la synthèse et la sécrétion de TBG par des hépatocytes isolés de singes rhésus ainsi que par une lignée cellulaire dérivée d'un hépatocarcinome de singe (GERSHENGORN (19)).

Les études métaboliques de la TBG chez l'homme sont peu nombreuses. Nous avons regroupé quelques résultats concernant le sujet normal provenant de deux études réalisées l'une par CAVALIERI (9) et l'autre par REFETOFF (78), dans le tableau VIII.

On peut donc considérer que la demi vie de la TBG est d'environ 5 jours et son volume de distribution de 6 à 7 litres (les demi-vies de la TBPA et de l'albumine sont respectivement de 1 à 2 jours et de 12,8 jours). La vitesse de renouvellement est de 0,2 à 0,3 μ moles / jour, soit 13 à 18 mg/jour.

Comme la plupart des autres glycoprotéines circulantes, la TBG est protégée de l'épuration hépatique tant qu'elle possède des résidus d'acide sialique. Lorsqu'après désialidation, ses résidus galactose sont découverts, elle est rapidement captée par les hépatocytes (REFETOFF (77)).

AUTEURS	T4 : PLASMATIQUE : (µg/100ml)(1):	ITL	CF de la TBG (µgT4/100 ml)(2)	TBG : PLASMATIQUE : (2)	T 1/2 (JOURS)	CLEARANCE : CATABOLIQUE : (1/jour)	VOLUME DE DISTRIBUTION (l.)	VITESSE DE RENOUVELLEMENT
CAVALIERI et Coll.(9)	: 7,12 ± 1,61	: 93,8 % de la : normale : ± 12,2	: 17,92 : ± 1,88	: 2,15 mg/100ml : ± 0,51	: 5,01 ± : 1,21	: 0,989 : ± 0,326	: 6,68 : ± 1,31	: 17,8 mg/j : ± 2,1
REFETTOFF et Coll.(78)	: 6,30 ± 0,91	: 7,30 ± 0,80		: 0,219 µmoles/l. : ± 0,029 : soit 1,314 mg/ : 100 ml : ± 0,174 (3)	: 5,29 : ± 0,42		: 7,23 : ± 1,02	: 0,211 : µmoles/j : ± 0,053 : soit 12,66 : mg/j : ± 3,18 (3)

- (1) Dosage par compétition
(2) Détermination par électrophorèse à contre courant, tampon ammonium carbonate pH 8,3
(3) Valeurs calculées à partir des précédentes en admettant que la masse molaire de la TBG soit de 60 000

TABLEAU VIII

PARAMETRES METABOLIQUES CONCERNANT LA TBG CHEZ LE SUJET EUTHYROIDIEN

En effet, 15 minutes après l'injection de TBG désialidée marquée à des rats, plus de 90 % de la radioactivité se retrouvent au niveau du foie. Le fait a été confirmé chez le lapin et chez l'homme.

D'autre part, on l'a vu, on trouve des quantités importantes de TBG désialidée dans le plasma des sujets présentant de graves atteintes hépatiques.

Pour REFETTOFF (77), la conversion de la TBG en TBG désialidée pourrait constituer une étape importante de la régulation de son métabolisme.

4) ROLE DE LA TBG

Le problème du rôle des protéines de transport des hormones thyroïdiennes reste entier aujourd'hui.

D'une part, l'absence congénitale de TBG est compatible avec un état d'euthyroïdie ce qui tendrait à prouver que la TBG n'ait pas de rôle indispensable dans l'action hormonale.

D'autre part, certaines découvertes concernant le retinol-binding protein (HELLER (32)), RASK et PETERSON (75) et certaines lipoprotéines BROWN et GOLDSTEIN (8) ont prouvé que ces protéines devaient se fixer aux membranes des cellules cibles pour permettre aux molécules qu'elles transportent d'exercer leur activité physiologique. Il est possible d'envisager, mais ceci n'a pas été démontré, un mécanisme similaire concernant la TBG et les autres protéines de transport des hormones thyroïdiennes.

CHAPITRE III

MOYENS D'ETUDE DE LA LIAISON DES HORMONES THYROIDIENNES PAR LA TBG TESTS ET DOSAGES UTILISES EN CLINIQUE

La concentration en hormones libres étant fonction d'une part, de la production hormonale, et d'autre part, des capacités de fixation du système protéique transporteur, il est utile, lors de bilan thyroïdien, d'effectuer parallèlement aux dosages des hormones, des tests concernant leur transport plasmatique.

Nous passerons rapidement ces tests en revue.

1) TESTS DE CAPTATION ET ITL

Le principe en est le suivant : après addition de faibles quantités d'hormone marquée, le sérum est mis en contact avec un support insoluble capable de lier l'hormone. La répartition de l'hormone marquée entre le système protéique de transport plasmatique et le support, reflètera celle de l'hormone endogène. La fixation du traceur sur le support sera inversement proportionnelle à l'affinité et la concentration en sites libres des protéines de transport et reflètera la proportion d'hormone libre dans le plasma.

Les résultats de ces tests concordent avec ceux obtenus par mesure directe des proportions d'hormone libre, aussi le produit des valeurs obtenues à ces tests de captation par la concentration totale hormonale permet-il d'obtenir un indice de thyroxine libre : ITL ou FTI (free thyroxine index).

2) CAPACITE MAXIMUM DE FIXATION DE LA TBG

Nous détaillerons dans la deuxième partie la technique permettant la détermination de la capacité de fixation de la TBG.

Nous rappellerons seulement que ce test permet d'apprécier la totalité des sites

de fixation hormonale sur la TBG présente dans un volume plasmatique donné, c'est-à-dire la somme des sites libres et des sites occupés par la T4 (ou la T3) endogène, alors que les tests de captation apprécient le nombre de sites libres sur les protéines de transport.

Comme l'indique le tableau IX, la capacité maximum de fixation de la TBG pour la thyroxine se situe autour de 20 μ g de T4/100 ml de plasma.

3) DOSAGE DE LA TBG. RAPPORT $\frac{T4}{TBG}$

La faible concentration plasmatique de la TBG (10 à 40 mg/l) pour une concentration protéique totale de l'ordre de 70 g/l constitue un obstacle majeur à sa purification. Aussi, jusqu'à ces dernières années, n'existait-il pas de dosage direct de cette protéine dont la concentration était déterminée indirectement à partir de sa capacité maximum de fixation, après avoir arbitrairement fixé le nombre de sites de liaison par molécule de TBG et la masse molaire de cette protéine.

C'est en 1971 que LEVY, MARSHALL et VELAYO (52) ont été les premiers à doser la TBG dans le sérum par méthode radioimmunologique, utilisant la technique du double anticorps et des réactifs qu'ils avaient préparés eux-mêmes après purification de la protéine. Ils obtinrent ainsi des concentrations plasmatiques comprises entre 2 et 4,8 mg/ 100 ml avec une moyenne de 3,6 mg/100 ml.

Ces valeurs sont voisines de celles obtenues par NILSSON et PETERSON (63) utilisant l'immunodiffusion radiale (3,1 mg/100 ml) mais sont très supérieures à celles déterminées indirectement à partir de la capacité de fixation de la TBG.

AUTEURS

CAPACITE DE LIAISON
 $\mu\text{g/T4/100 ml plasma}$
 (m.déviat. standard)

ROBBINS 1956 (82)	16 à 24
ROBBINS ET RALL 1957 (84)	20 ± 4,8
KANAKA ET STARR 1959 (99)	11 à 30
	19,1 ± 4,5
VANNOTTI et COLL 1959 (103)	16 à 24
INGBAR et FREINKEL 1960 (38)	21
DEISS 1962 (12)	19 à 22
OPPENHEIMER et COLL 1963 (68)	24,5
DIGIULIO et COLL 1964 (14)	22,4 ± 1,3
GUERIN et COLL 1965 (26) (27) (28)	19,9 ± 4,4
DE NAYER et COLL 1965 (13)	25,6 ± 1,3
LAUNAY 1966 (47)	16 à 24
INADA et STERLING 1967 (35) (36)	21 ± 2,1
ROCHE et COLL 1967 (87)	20 à 22
BESSON 1968 (3)	20
OPPENHEIMER 1968 (67)	16 à 24
NIKOLAI et ROBERTS 1969 (62)	11 à 29
ROBERTS et NIKOLAI 1969 (86)	20,7 ± 3,2
	19,2 ± 2,6
	16,4 ± 3,2
VILLE 1969 (104)	18,9 ± 2,6
HAMADA et COLL 1970 (29)	19,8
REFETOFF et COLL 1970 (80)	23,5 ± 3,62
BANOS et TAKO 1971 (1)	18,5 ± 3,5
DAVIS et GREGERMAN 1971 (11)	25 à 41
HANSEN et SIERSDAEK-NIELSEN 1972 (30)	15 à 25
MINCEY et COLL 1972 (58)	15,1 ± 0,4
NUSYNOWITZ et STRADER 1972 (66)	20
REFETOFF et COLL 1972 (79)	17 à 34 (femmes)
BODE et COLL 1973 (7)	14 à 26,3 (hommes)
	16 à 24
DUSSAULT et COLL 1973 (15)	15 à 30
SAKURADA et COLL 1974 (89) (90)	14 à 21
NIIMI et NASAKI 1975 (61)	16 à 25
PAIN 1975 (71)	17,92 ± 1,88
CAVALIERI et COLL 1975 (9)	16 à 24
REFETOFF et COLL 1976 (78)	

TABLEAU IX

CAPACITE MAXIMUM DE LIAISON DE
 LA TBG VIS A VIS DE LA T4 D'APRES
 LECUREUIL ET COLL (49)

HESCH et COLL (33) ont trouvé par dosage radioimmunologique, une concentration sérique moyenne de TBG de 0,97 mg/100 ml (ce qui est en accord avec les résultats de STERLING (95) obtenus par méthode indirecte) et expliquent la divergence des résultats de LEVY (52) par l'existence de réactions croisées de l'anticorps anti TBG avec l'albumine.

Les principaux résultats concernant les taux plasmatiques de TBG déterminés directement et indirectement, figurent dans le tableau X.

Il apparaît que la plupart des valeurs obtenues directement, sont nettement plus élevées que celles déterminées à partir de la capacité de fixation de la TBG.

Les deux méthodes, en fait, utilisent des principes totalement différents, et si le dosage radioimmunologique pose le problème de la qualité de la TBG standard employée, la technique utilisée pour la détermination de la capacité de fixation ne peut être d'une grande précision.

Le rapport T4/TBG constitue comme l'ITL un moyen d'approche de la fraction libre hormonale, mais il ne tient compte que de la TBG et non de la TBPA et de l'albumine. D'autre part, une éventuelle modification de l'affinité de la TBG pour T4 ne serait pas mise en évidence par ce rapport. Certains auteurs tels WACHECK (105) le préfèrent cependant à l'ITL. Cette question sera revue dans la deuxième partie de la thèse.

AUTEURS	CONCENTRATION PLASMATIQUE DE LA TBG (mg/100 ml)	METHODE
Ensemble des mesures de capacité de fixation	1 à 2	Méthode indirecte à partir de la capacité maximum de liaison de la TBG vis à vis de la thyroxine
ROBBINS et RALL (84)	1 à 3	
OPPENHEIMER (67)	1,5	
LEVY et COLL (52)	3,6	
CHOPRA ET COLL. (10)	2,85 ± 0,08	Dosage radioimmunologique
NILSSON et PETERSON (63)	3,1	Dosage par compétition
CAVALIERI et Coll. (9)	2,15 ± 0,51	Immunodiffusion radiale
RUDORFF et Coll. (88)	2,55 ± 0,50	Dosage radioimmunologique
HESCH et Coll. (33)	0,97 ± 0,14	Dosage par compétition
		Dosage radioimmunologique

TABLEAU X

CONCENTRATION PLASMATIQUE DE LA TBG CHEZ DES SUJETS EUTHYROIDIENS
D'APRES LECUREUIL ET COLL (48)

CHAPITRE IV

MODIFICATIONS DE LA LIAISON DES HORMONES THYROIDIENNES PAR LA TBG

La liaison des hormones par la TBG peut être affectée par deux sortes de facteurs : modification de la production hormonale ou modification de la TBG elle-même (ou du moins de sa concentration plasmatique).

Nous envisagerons tout d'abord les modifications primaires de la TBG, soit dans le sens d'une augmentation de sa concentration sérique, soit dans celui d'une diminution.

1) MODIFICATIONS PRIMAIRES DE LA TBG

a - Augmentation de la concentration plasmatique de la TBG

Cette augmentation de la concentration sérique de la TBG se retrouve dans différentes circonstances. Elle a pour conséquence une augmentation secondaire des concentrations en T4 et T3 totales plasmatiques et une diminution des proportions d'hormones libres ($\frac{F\ T4}{T4}$ et $\frac{F\ T3}{T3}$) et des valeurs obtenues aux tests de captation.

Les concentrations en hormones libres et l'ITL sont cependant normaux, tout comme l'est l'état métabolique du sujet.

La gestation est la cause naturelle la plus commune de cette augmentation de TBG qui commence dès les premières semaines et amène la protéine à des taux doubles ou triples de la normale vers le deuxième ou troisième mois jusqu'à la fin de la grossesse. Elle s'accompagne d'une légère diminution des capacités de fixation de la TBPA. Ces modifications disparaissent progressivement pendant les 5 à 6 semaines suivant l'accouchement.

Cette augmentation des taux de TBG chez la femme enceinte est sans doute due à

l'augmentation de la production d'œstrogènes car on la retrouve chez les hommes et les femmes soumis à un traitement œstrogénique. Ainsi pour CHOPRA (10) le taux moyen de TBG d'un groupe de 25 femmes soumises à une contraception orale, est de $46 \pm 1,8 \mu\text{g/ml}$ alors que celui des témoins est de $28,5 \pm 0,8 \mu\text{g/ml}$.

Le passage transplacentaire des œstrogènes serait responsable des taux élevés de TBG trouvés chez le nouveau né.

Enfin les tumeurs sécrétant des œstrogènes s'accompagnent d'une augmentation de capacité de fixation de la TBG et des taux plasmatiques de T4 totale.

Cette augmentation lors d'hyperœstrogénisme ne concerne pas seulement la TBG, d'autres protéines de transport telles que la corticostéroïd-binding globulin ou la ceruleoplasmine voient-elles aussi leurs taux monter.

Une augmentation peu importante de la capacité de fixation de la TBG et de la concentration totale en T4 sont rencontrées chez une forte proportion des femmes et quelques hommes présentant une porphyrie intermittente. La raison en est inconnue.

L'Hépatite infectieuse peut s'accompagner elle aussi d'une augmentation de TBG et de T4 totale.

Il existe de rares cas d'augmentation congénitales de la TBG et de la T4 totale plasmatiques avec diminution des valeurs obtenues au test de captation. L'état métabolique est normal. Dans ce cas, il n'y a pas d'hyperœstrogénisme et les concentrations plasmatiques des autres protéines de transport sont normales (JONES (40)).

b - Diminution de la concentration plasmatique de la TBG

Les conséquences d'une diminution de la concentration plasmatique de la TBG sont

une diminution des concentrations en T4 et T3 totales et une augmentation de la proportion d'hormones libres et les valeurs obtenues aux tests de captation.

La testostérone et ses dérivés aux propriétés androgéniques ou anabolisantes utilisées à doses pharmacologiques, provoquent une diminution importante de la TBG. La thyroxine, et, à un moindre degré, la triiodothyronine totales sont elles aussi diminuées, et les valeurs obtenues aux tests de captation sont augmentées. La capacité de fixation de la TBPA est elle légèrement augmentée.

Des changements similaires sont rencontrés lors d'administration de fortes doses de glucocorticoïdes et chez quelques malades présentant un syndrome de Cushing.

L'acromégalie peut s'accompagner d'une diminution de la TBG et d'une augmentation de la TBPA.

Dans le syndrome néphrotique la perte urinaire de TBG et de TBPA est responsable de la diminution des taux plasmatiques de ces protéines avec diminution des taux de T4 totale et augmentation des valeurs obtenues aux tests de captation.

Une diminution des taux de TBG peut se rencontrer lors de toute maladie sévère et après un stress chirurgical. Dans ces cas, la proportion de T4 libre et des valeurs des tests de captation sont beaucoup plus élevées que ne le voudrait la diminution de la concentration totale en T4. Aussi, la concentration de T4 libre est-elle souvent augmentée.

Il existe quelques cas de déficits congénitaux en TBG semblant se transmettre le plus souvent (certains auteurs ont mis en évidence un mode de transmission autosomique de déficit congénital en TBG, cf métabolisme de la TBG) sur un mode gonosomique lié à l'X : REFETTOFF et SELENKOW (81). Chez le sujet masculin atteint par le

déficit, la capacité de fixation de la TBG est nulle et les taux plasmatiques très bas tandis que chez le sujet féminin, capacité de fixation et taux plasmatique sont habituellement diminués de moitié par rapport à la normale, les hommes étant considérés comme homozygotes et les femmes heterozygotes pour le caractère déficitaire. Ce déficit en TBG s'accompagne d'une diminution des concentrations sériques totales en T4 et T3 et d'une augmentation des valeurs des tests de captation. Les sujets sont cliniquement euthyroïdiens.

2) MODIFICATIONS DE LA PRODUCTION HORMONALE

Les modifications primitives de la production hormonale ont des conséquences très différentes de celles résultant d'une modification primitive de la TBG, sur la liaison des hormones à cette protéine.

a - Hypoproduction hormonale

Chez l'hypothyroïdien, la proportion d'hormones libres et les valeurs des tests de captation sont habituellement diminuées, mais peuvent se situer à la limite inférieure de la normale. La concentration subnormale d'hormone totale conduit à une insaturation relative des sites de fixation plasmatiques, mais lorsque la proportion d'hormone libre et les tests de captation sont nettement diminués, les capacités de fixation de la TBG tendent à être augmentées.

La concentration subnormale d'hormone totale sans diminution proportionnelle de la TBG est responsable de la diminution de la concentration d'hormone libre.

b - Hyperproduction hormonale

Lors d'hyperthyroïdie, spontanée ou résultant de l'administration de T4 ou d'extraits thyroïdiens, la proportion d'hormone libre et les valeurs de tests de captation sont augmentées. Cette augmentation est due en partie à la saturation relative des sites de fixation de la TBG par la concentration en T4 totale excessive. Cependant, pour certains auteurs, une concentration subnormale de TBG est peut-être de TBPA, pourrait être un facteur additionnel important.

3) LA TBG LORS DE PATHOLOGIE THYROIDIENNE

L'étude de la capacité de fixation de la TBG lors de pathologie thyroïdienne a été effectuée par différents auteurs. Les résultats sont assez concordants. La CF tend à augmenter chez l'hypothyroïdien et à diminuer chez l'hyperthyroïdien.

Le tableau XI regroupe quelques uns de ces résultats.

CF DE LA TBG (μ gT4/100 ml plasma)			
AUTEURS	TEMOINS	HYPOTHYROIDIENS	HYPERTHYROIDIENS
INADA et STERLING (35)	$21 \pm 2,1$	$25,4 \pm 3,5$	$16 \pm 4,2$
CAVALIERI (9)	$17,92 \pm 1,88$	$24,6 \pm 4,67$	-
LEMARCHAND- BERAUD (51)	$19,27 \pm 1,94$	$21,52 \pm 3,26$	$14,06 \pm 8,24$

TABLEAU XI

CAPACITE DE FIXATION (CF) DE LA TBG POUR LA THYROXINE LORS
DE DYSTHYROIDIE

Le tableau XII indique les résultats de différents auteurs concernant les taux plasmatiques de TBG obtenus par dosage direct.

TBG PLASMATIQUE (mg/100 ml)			
AUTEURS	EUTHYROIDIENS	HYPOTHYROIDIENS	HYPERTHYROIDIENS
LEVY (52)	3,6	idem eu.	2,4
CHOPRA (10)	$2,85 \pm 0,08$	$2,56 \pm 0,26$	$1,89 \pm 0,17$
CAVALIERI (9)	$2,15 \pm 0,51$	$2,55 \pm 0,42$	non donné
RUDORFF (88)	$2,55 \pm 0,5$	$3,68 \pm 0,62$	$1,3 \pm 0,4$
HESCH (33)	$0,97 \pm 0,14$	$1,26 \pm 0,11$	idem eu.
WACHECK (105)	$2,06 \pm 0,48$	$2,53 \pm 0,48$	$1,95 \pm 0,5$
BISSET (4)	$2,11 \pm 0,39$	$2,59 \pm 0,65$	$2,11 \pm 0,55$

TABLEAU XII

TAUX PLASMATIQUES DE TBG LORS DE DYSTHYROIDIE
D'APRES LECUREUIL ET COLL (48)

Les taux de TBG sont normaux chez l'hypothyroïdien pour LEVY (52) CHOPRA (10) et DISSET (4) alors qu'ils sont augmentés chez les autres auteurs.

HESCH (33), DISSET (4) et WACHECK (105) trouvent des concentrations normales chez l'hyperthyroïdien alors que les autres auteurs mettent en évidence une nette augmentation de ces taux.

Il convient de noter que les résultats concernant les sujets hyper et hypothyroïdiens, ont été obtenus sur des effectifs réduits et que d'autre part, il existe une assez grande dispersion des taux de TBG plasmatique chez les sujets euthyroïdiens. Aussi la mise en évidence d'une variation peu importante de ces taux lors de dysthyroïdie, devient elle aléatoire

Par ailleurs, deux études métaboliques de la TBG dont les principaux résultats sont reportés dans le tableau XIII, ont été réalisées chez des sujets eu et dysthyroïdiens. Elles ne permettent aucune conclusion concernant le mécanisme pathogène des modifications des taux plasmatiques de cette protéine décrites lors de dysthyroïdie. Les paramètres métaboliques sont en effet, à l'intérieur d'un même groupe, beaucoup trop différents d'un sujet à un autre et les effectifs de ces groupes beaucoup trop réduits.

C'est pourquoi, nous avons entrepris d'étudier l'évolution des taux plasmatiques de cette protéine chez des sujets atteints de maladie de Basedow avant et après traitement.

Outre la comparaison des taux plasmatiques de TBG du groupe des sujets hyperthyroïdiens à ceux d'un groupe témoin, nous avons donc pu effectuer chez les hyperthyroïdiens la comparaison des taux obtenus avant et après traitement pour chaque sujet (test t apparié) ce qui devait permettre la mise en évidence d'un éventuel abaissement de ces taux lors de la phase d'hyperthyroïdie.

AUTEURS	SUJETS	T4 Plasma- tique (µg/ 100 ml) (1)	ITL	CF de laTBG (µgT4/100ml) (2)	TBG Plasma- tique	T 1/2 (jours)	Clearance catabolique (1/jour)	Volume de distribution (1)	Vitesse de renouvellement
CAVALIERI et Coll. (9)	euthyroïdiens: n = 6	7,12 + 1,61 —	93,8 % de la normale + 12,2 —	17,92 + 1,88 —	2,15 mg/ 100 ml + 0,51 —	5,01 + 1,21 —	0,989 + 0,326 —	6,68 + 1,31 —	17,8 mg/j + 2,1 —
	hypothyroï- diens n = 4	2,62 + 1,32 —	32,2 % de la normale + 10,3 —	24,6 + 4,67 —	2,65 mg/ 100 ml + 0,51 —	6,16 + 3,2 —	0,921 + 0,462 —	7,14 + 2,13 —	23,2 mg/j + 8,5 —
REFETOFF coll. (10)	euthyroïdiens: n = 9	6,30 + 0,91 —	7,30 + 0,80 —		0,219 µmoles/l + 0,029 — 100 ml + 0,174 (3) —	5,29 + 0,42 —		7,23 + 1,02 —	0,211 µmoles/j + 0,053 — soit 12,66 mg/j + 3,18 (3) —
	hypo- thyroïdiens	0,9 —	0,8 —		0,251 micro moles/l soit: 1,506 mg/100: ml	6,17 —		10,15 —	0,286 micro moles/j soit 17,16 mg/j —
		2,7 —	2,9 —		0,206 micro moles/l soit: 1,236 mg/100: ml	5,95 —		8,06 —	0,202 micro moles/j soit 12,12 mg/j —
		4,0 —	3,8 —		0,264 micro moles/l soit: 1,584 mg/100: ml	4,81 —		4,02 —	0,121 micro moles/j soit 7,26 mg/j —
	hyper- thyroïdiens	13,0 —	18,2 —		0,196 µmoles/ l soit 1,176: mg/100 ml	3,58 —		6,35 —	0,239 µmoles/j soit 14,34 mg/j —
		12,6 —	13,8 —		0,224 µmoles/ l soit 1,344: mg/100 ml	3,55 —		4,35 —	0,191 µmoles/j soit 11,46mg/j —

(1) Dosage par compétition

(2) Détermination par électrophorèse à contre courant, tampon ammonium carbonate pH 8,3

(3) Valeurs calculées à partir des précédentes en admettant que la masse molaire de la TBG soit de 60 000

TABLEAU XIII

PARAMETRES METABOLIQUES CONCERNANT LA TBG CHEZ LE SUJET EU, HYP0 et HYPERTHYROIDIEN

DEUXIEME PARTIE
=====

TRAVAUX PERSONNELS
=====

CHAPITRE I

MATERIEL ET DOSAGE

1) DOSAGE PLASMATIQUE DE LA TBG

Les taux plasmatiques de TBG ont été déterminés chez :

59 sujets témoins : 23 femmes et 36 Hommes dont les sérums provenaient du Centre de Transfusion Sanguine de LYON.

18 sujets atteints de maladie de B/SEDOW : 15 femmes et 3 hommes parmi lesquels 10 ont fait l'objet d'une étude comparative avant/après traitement.

a - Principe du dosage

Les taux de TBG ont été déterminés par la méthode radioimmunologique du simple anticorps (kit commercial : R I A GNOST, BEHRING AG) dont le principe est résumé dans la figure 1.

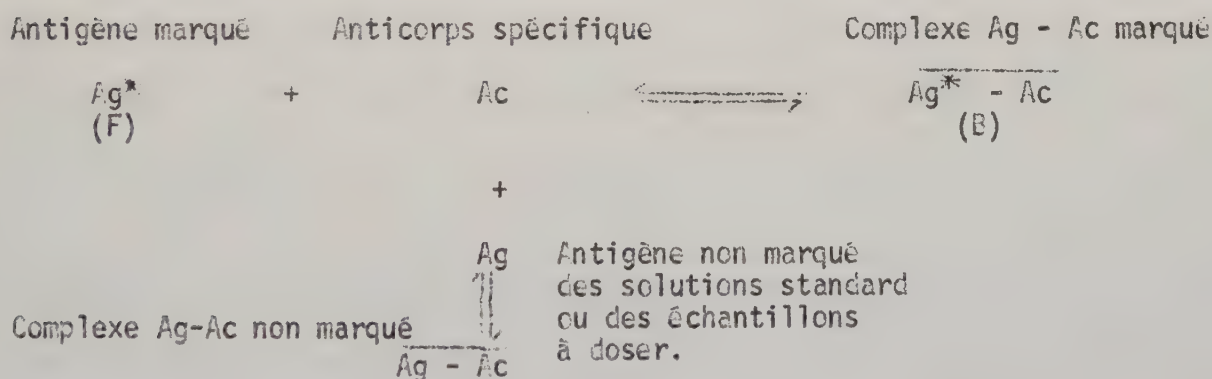


FIGURE 1

METHODE DU SIMPLE ANTICORPS

La TBG non marquée de l'échantillon à doser entre en compétition avec l'antigène marqué pour se lier à l'anticorps, diminuant ainsi la liaison de la TBG marquée (B : bound).

Pour la détermination de la concentration en TBG d'un échantillon donné, le degré d'inhibition compétitive observé est comparé à celui obtenu avec des solutions standard de concentration en TBG connues.

b - Réalisation du dosage

Du point de vue pratique, tous les échantillons à doser ainsi que les solutions standard reçoivent une même quantité de TBG marquée et d'anticorps anti TBG; Après incubation, à température ambiante et à l'obscurité de 12 H, la précipitation des complexes Ag - Ac est obtenue par addition de polyéthylène glycol. Après centrifugation et élimination du surnageant contenant la TBG marquée non liée à l'anticorps (F : free), les culots sont mis à compter. Pour chaque tube est évalué le pourcentage $\frac{B}{B_0}$ c'est à dire le rapport de la radioactivité retrouvée dans le précipité de l'échantillon à celle du précipité obtenu avec la solution standard de concentration en TBG nulle.

Les valeurs obtenues pour les différentes solutions standard permettent de tracer une courbe d'étalonnage B/B_0 en fonction de la concentration en TBG. L'évaluation du rapport B/B_0 d'un échantillon permet de lire sur la courbe, la concentration en TBG correspondante.

Un exemple de courbe d'étalonnage est donné dans la figure 2.

2) DETERMINATION DE LA CAPACITE MAXIMUM DE FIXATION DE LA TBG POUR LA THYROXINE.

D'autre part, cinq des sujets hyperthyroïdiens ont fait l'objet d'une détermination de la capacité de fixation de leur TBG vis à vis de la T₄, ceci avant et après traitement.

La CF permet, comme nous l'avons vu dans la première partie, de déterminer indirectement la concentration plasmatique en TBG.

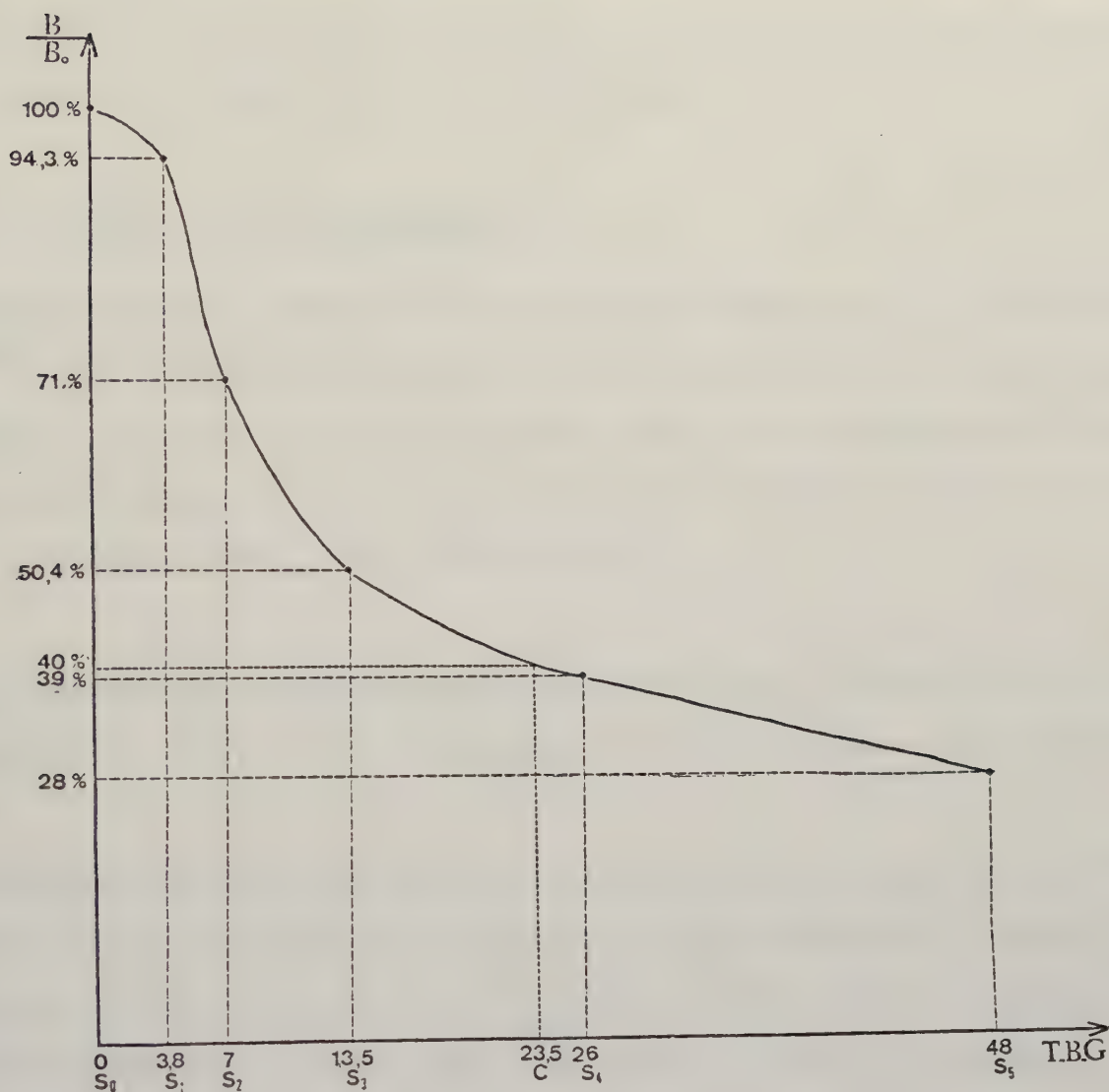


Figure 2. Courbe d'étalonnage du dosage radio-immunologique de la TBG.

S_0 , S_1 , S_2 , S_3 , S_4 , S_5 : concentrations des solutions standard.

C : concentration d'un serum contrôle.

Ces cinq cas ont permis la comparaison des résultats obtenus par méthode directe et indirecte.

La technique utilisée est celle de l'électrophorèse à contre courant (reverse-flow) dérivée de celle mise au point par ROBBINS (82).

a - Principe de cette détermination

Six échantillons du plasma étudié reçoivent une même dose de L T4 marquée à 1^{125} I. Des quantités croissantes de L T4 froides sont ajoutées ensuite de l'échantillon 1 à l'échantillon 6 qui vont être soumis à une électrophorèse à contre-courant sur papier, tampon trisaléate pH 8,6 à 110 volts pendant 18 Heures afin de séparer, les 3 complexes TBG-T4, TBPA-T4 et Albumine-T4.

La distribution de l'hormone marquée sur ces protéines, reflètera celle de l'hormonémie totale, c'est à dire : T4 endogène + T4 marquée ajoutée + T4 froide ajoutée.

L'évaluation du pourcentage de radioactivité retrouvée au niveau de la TBG permet, en multipliant ce résultat par la quantité de T4, présente dans l'échantillon considéré, de connaître la quantité de T4 fixée sur la TBG. Celle-ci va croître avec l'enrichissement en T4 froide jusqu'à un certain plateau qui correspond à la capacité maximum de fixation de la TBG, c'est à dire la quantité de T4 fixée par la TBG lorsqu'elle est saturée. Cette CF s'exprime donc en μ g de T4/100 ml de plasma.

b - Principe de l'électrophorèse à contre-courant

Mise au point en 1950 par ROBBINS (82) l'électrophorèse à contre courant consiste à contrecarrer la migration des protéines vers l'anode par un flux de tampon se dirigeant vers la cathode. Le flux du tampon doit être ajusté de telle façon que l'albumine reste à l'endroit du dépôt de l'échantillon, la TBPA migre vers l'anode et les globulines, dont la TBG, vers la cathode.

La répartition des protéines plasmatiques après l'électrophorèse conventionnelle et à contre-courant, est schématisée dans la figure 3.

Lors d'une électrophorèse conventionnelle, le papier entre en compétition avec les sites de fixation des protéines de transport vis à vis de la T4 qui, détachée de ces protéines, ne migre plus et reste sur le papier à l'endroit de la rupture.

D'autre part, les complexes T4-protéines subissent eux aussi une certaine adsorption sur le papier. De ce fait, après l'électrophorèse conventionnelle d'un plasma additionné de T4 marquée, il existera une trainée de radioactivité allant de l'endroit du dépôt jusqu'à l'emplacement de la TSG.

De plus, une partie du pic de radioactivité retrouvé au niveau de la TSG, correspondra en fait à la présence de complexes T4-TBPA et T4-albumine en zone inter globulines n'ayant pu achever leur migration.

Le contre-courant permet de supprimer, d'une part, la trainée de radioactivité et, d'autre part, la contamination du complexe T4-TSG par les complexes T4-TBPA et T4-albumine.

Le choix d'un tampon trismaléate à pH 8,6 s'explique par le fait qu'à pH 7,4 l'interaction T4-papier est assez importante pour une affinité T4-TBPA faible, alors qu'au pH choisi, l'interaction entre la TBPA et T4 est relativement forte tandis que celle entre le papier et T4 est faible.

La répartition d'une dose traceuse de ^{125}I thyroxine sur les protéines sériques après électrophorèses conventionnelle et à contre-courant est schématisée dans la figure 4.

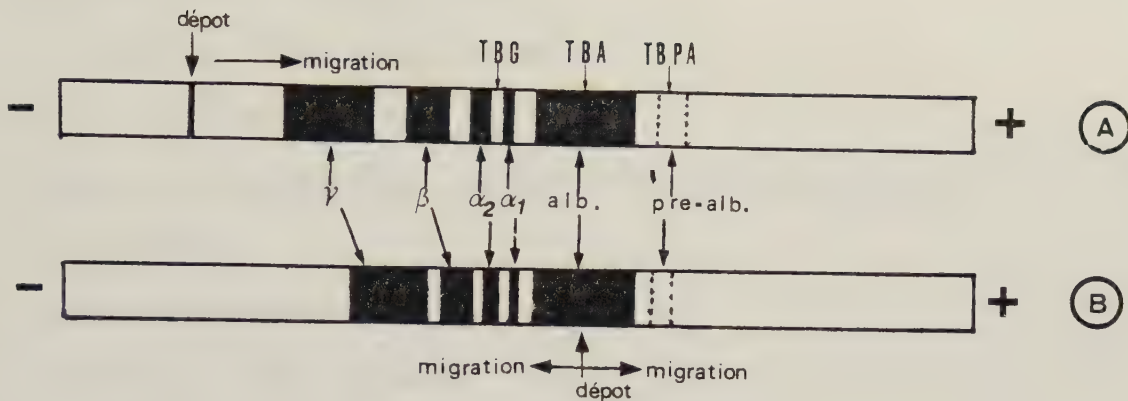


Figure 3. Séparation des protéines sériques par électrophorèse sur papier, pH 8,6

- (A) électrophorèse conventionnelle
(B) électrophorèse à contre-courant

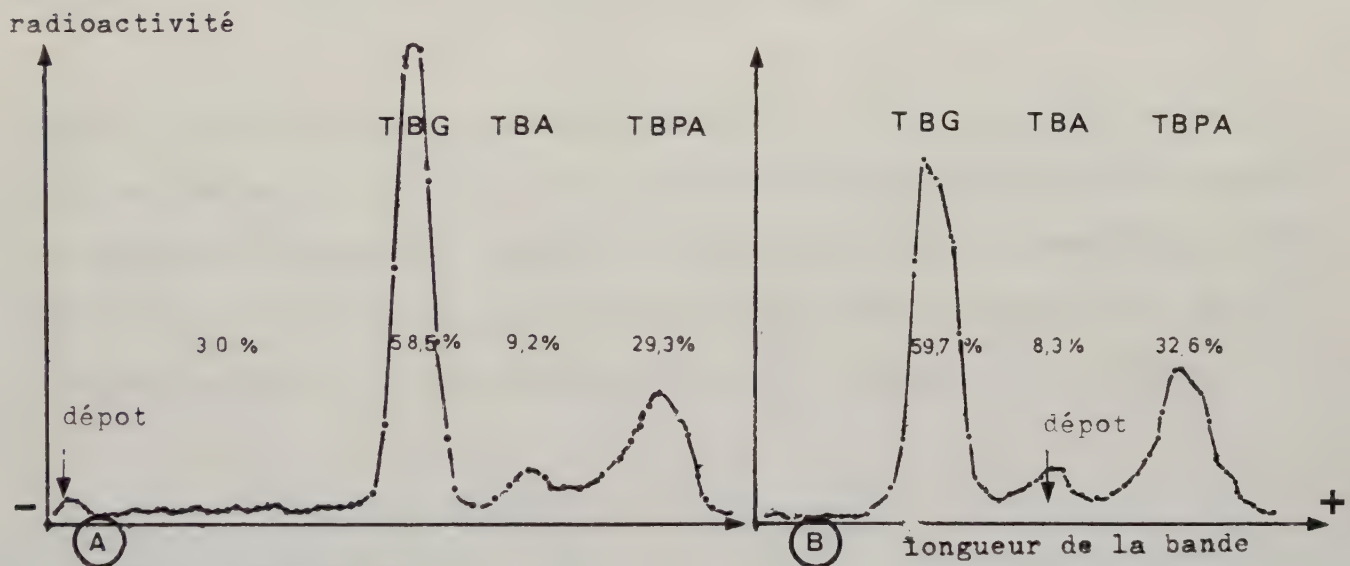


Figure 4. Répartition de la radioactivité correspondant à une dose traceuse de ^{125}I -thyroxine sur les protéines de transport plasmatiques.

Après incubation d'un serum avec de la T_4 marquée, les complexes hormones-protéines ont été séparés :

- (A) par électrophorèse conventionnelle
(B) par électrophorèse à contre-courant

c - Produits et matériel utilisés :

- solutions de L T4 froide (Sigma)
- solutions de ^{125}I L T4 (Amersham IM 141)
- Cuve à électrophorèse type Groulade
- Support d'électrophorèse : papier filtre Schleicher-Schüll G.M.B.G. 3564 (31,5 X 4 cm)
- Tampon Tris Maleate pH 8,6
- Révélateur : amido-Schwartz
- Compteur à scintillation solide (Packard 5260).

- Solutions de L T4 froide :

Les différentes concentrations nécessaires sont obtenues à partir d'une solution mère de L T4 à 10 mg/100 ml réalisée dans une solution d'albumine à 100 mg/100 ml.

L'hormone est solubilisée par quelques gouttes de soude N. Après addition de la solution albumineuse, le pH est ajusté autour de 8,6 par quelques gouttes d'acide chlorhydrique. On complète ensuite au volume désiré. Les solutions filles à 7500, 5000, 2500, 1250, 500 et 250 μg de T4/100 ml sont réalisées par dilution de la solution mère avec la solution albumineuse selon le processus de la figure 5.

- Tampon Trismaleate pH 8,6 :

Ce tampon est composé de :

- Trishydroxyméthylaminométhane : 24,2 g
- Anhydride maléique : 19,6 g
- Soude : 13,84 g
- Eau distillée qsp : 4000 ml

Le pH est ajusté à 8,6 par HCl 4 N.

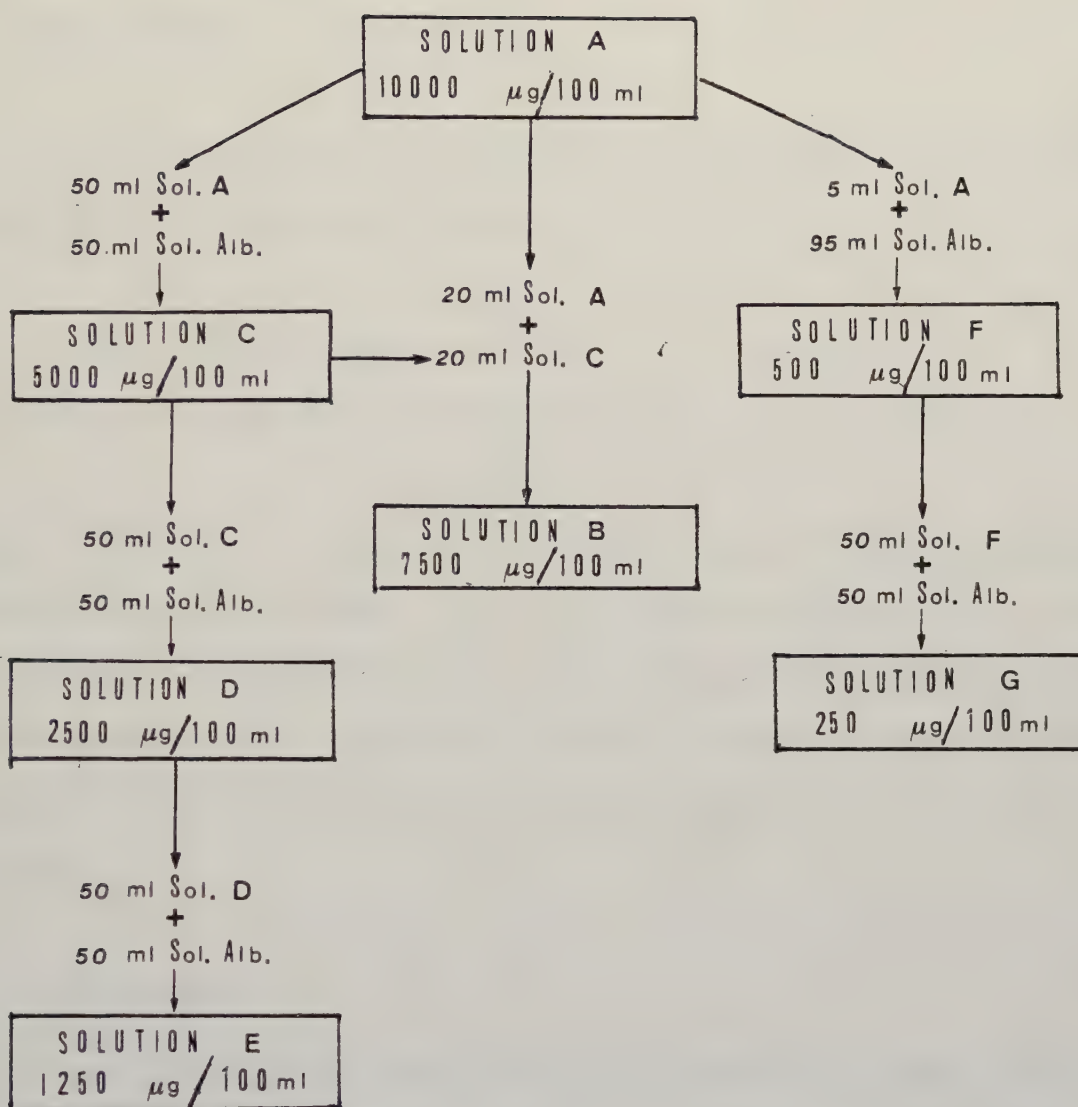


Figure 5. Préparation des différentes solutions de thyroxine froide à partir d'une solution contenant 10 mg d'hormone / 100 ml (d'après VILLE (104))

- Révélateur : Amido Schwartz

Ce colorant est composé de :

- Amido Schwartz : 5 g
- Méthanol : 900 ml
- Acide acétique : 100 ml

Le décolorant est un mélange de méthanol - acide acétique - eau dans les proportions respectives suivantes : 5, 1, 5.

- Cuve à électrophorèse Goulade

Un schéma de la cuve est donné dans la figure 6.

Comme la figure 7 l'indique, les bacs anodique et cathodique sont remplis par des volumes différents de tampon : 720 ml pour le bac anodique et 360 ml pour le bac cathodique. La dénivellation h ainsi créée provoque un mouvement de tampon allant du bac anodique au bac cathodique à travers les bandes de papier. Ce courant s'oppose ainsi à la migration des protéines plasmatiques se faisant à pH 8,6 vers l'anode.

d - Réalisation

Des volumes de 250 μ l du plasma étudié sont placés dans 6 tubes de verre. Chaque tube reçoit 25 μ l de la solution de T4 marquée et des quantités différentes et croissantes de T4 stable sous un volume de 25 μ l provenant des solutions A à G.

Le mélange est assuré par agitation au vortex. Le temps d'incubation à température ambiante est de 45 minutes.

Chaque échantillon est alors soumis à une électrophorèse à contre-courant sur papier pendant 18 Heures à 110 V.

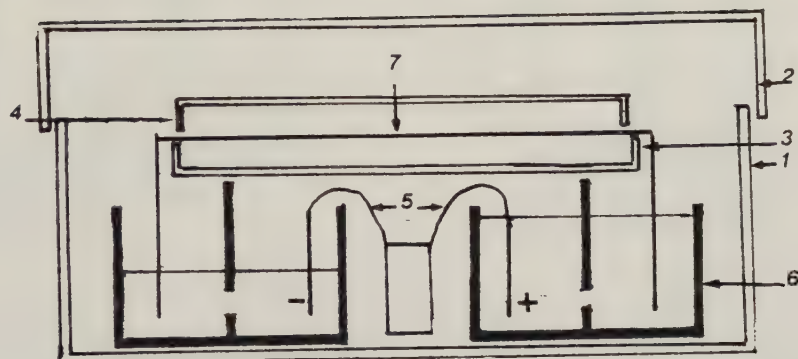


Figure 6. Appareil à électrophorèse Type Goulade
(d'après VILLE (104)

1. Enceinte
2. Couverture de l'enceinte
3. Chevalet
4. Couverture du chevalet
5. Electrodes
6. Bac à tampon
7. Papier

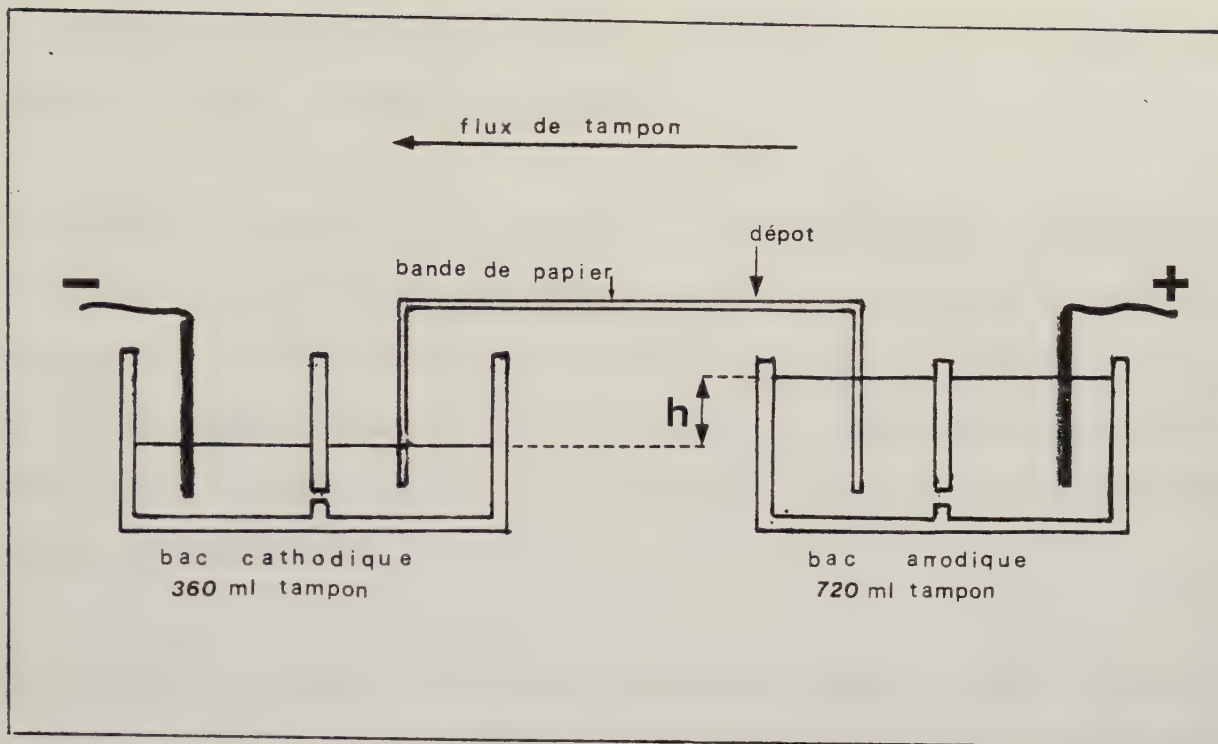


Figure 7. Technique d'électrophorèse à contre-courant
(d'après VILLE (104))

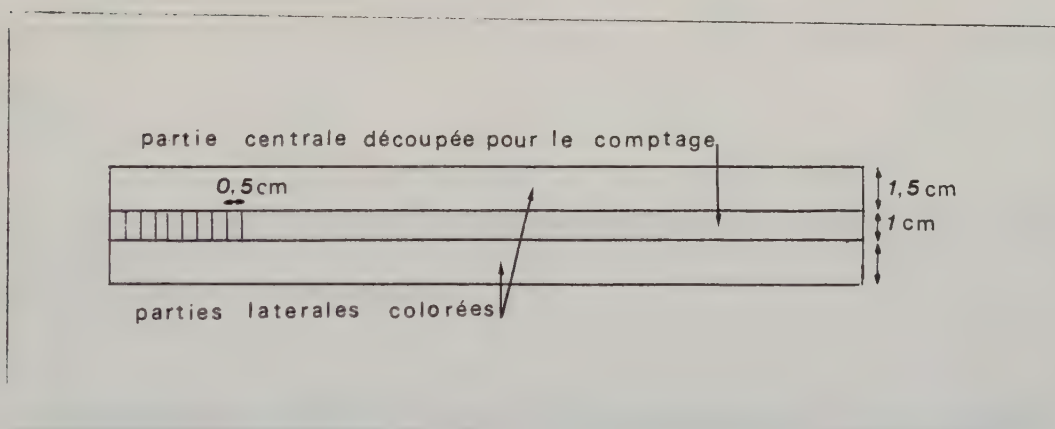


Figure 8. Découpage des bandes de papier après électrophorèse à contre-courant

En fin d'électrophorèse, les bandes de papier sont immédiatement séchées à l'étuve afin d'éviter la diffusion des protéines, puis découpées longitudinalement en trois parties de la façon indiquée sur la figure 8.

La migration des protéines ayant tendance à s'incurver sur les bords du papier, seule la partie centrale servira à la détermination des pourcentages de radioactivité retrouvée sur les trois protéines de transport. Les parties latérales serviront de contrôle en étant colorées par l'amido Schwartz. La partie centrale est alors découpée transversalement tous les 0,5 cm et chaque parcelle de papier est soumise au comptage de radioactivité.

Les résultats du comptage sont reportés pour chaque échantillon sur un graphe. On totalise le nombre de c p m obtenus au niveau du pic de la TBG et l'on forme le rapport cpm TBG/cpm totaux.

Il suffit ensuite de multiplier ce pourcentage par la quantité de T4 présente dans l'échantillon (T4 marquée et froide ajoutées en quantités connues + T4 endogène totale déterminée par dosage radioimmunologique) pour en déduire la quantité fixée sur la TBG.

Lorsque cette quantité a atteint un plateau, elle est égale à la capacité de fixation de la TBG du plasma étudié.

c - Détermination de la CF de la TBG plasmaticque d'un sujet témoin.

La figure 9 qui représente la distribution de ^{125}I -T4 sur les protéines plasmatiques dans les différents échantillons de ce plasma, montre bien la décroissance du pic de radioactivité retrouvée au niveau de la TBG avec l'enrichissement du plasma en T4 Froide.

Le pourcentage de radioactivité correspondant aux différents pics est indiqué sur cette même figure.

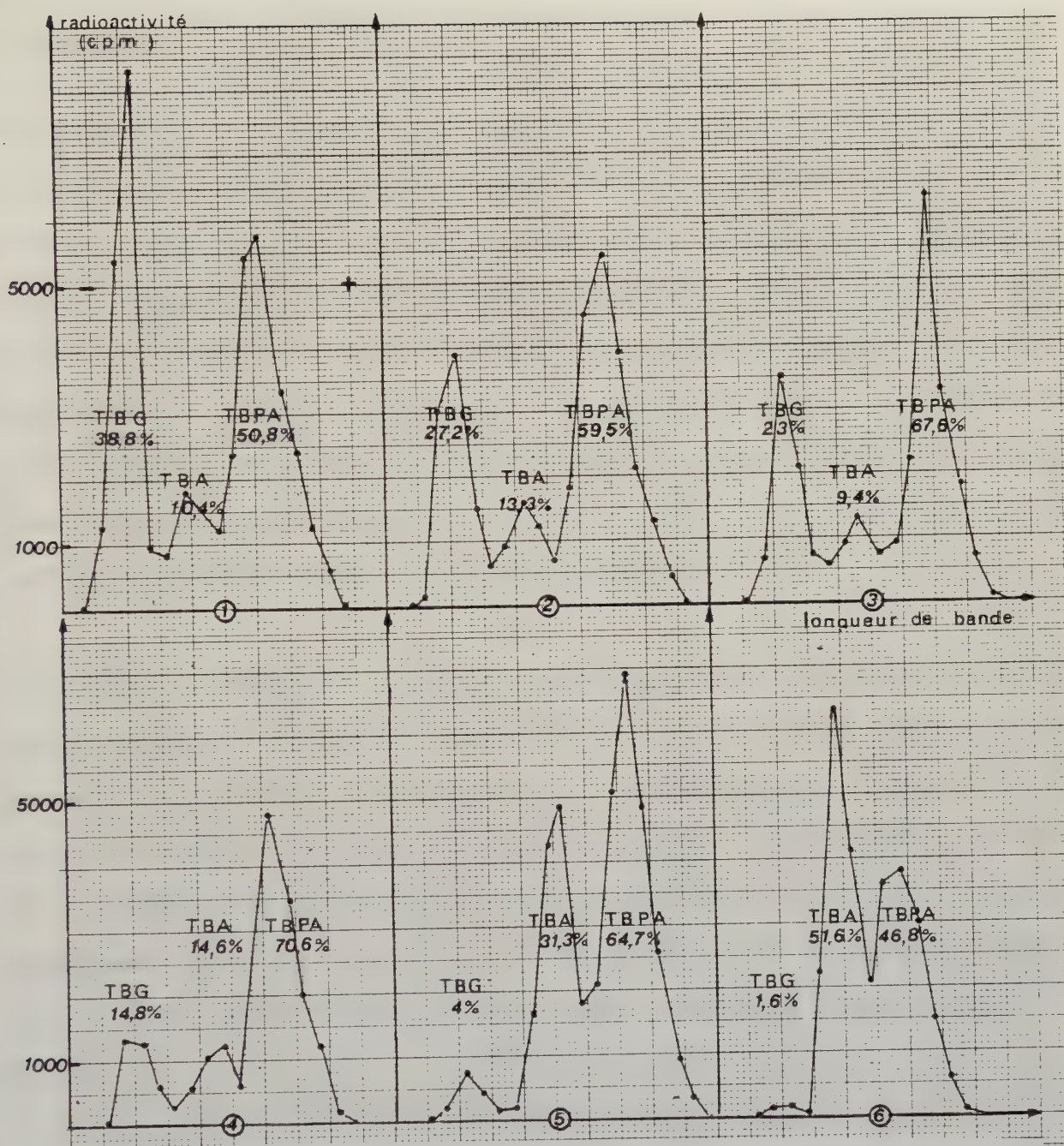


Figure 9. Répartition de la ^{125}I -thyroxine sur les protéines vectrices pour différentes concentrations plasmatiques en hormone. (Electrophorèse à contre-courant sur papier, Tampon Tris - maléate pH 8,6)

Concentrations plasmatiques en T_4 ($\mu\text{g} / 100 \text{ ml}$):

① = 48,2

② = 73,2

③ = 98,2

④ = 173,2

⑤ = 548,2

⑥ = 1 048,2

Le tableau I permet de connaître pour chaque échantillon la quantité de T4 fixée sur la TBG c'est à dire le produit : % RA sur la TBG X T4 totale de l'échantillon (T4 endogène + 125 I-T4 ajoutée + T4 froide ajoutée).

Les résultats de ce tableau ont été reportés sur la figure 10 qui montre bien que la quantité de T4 fixée sur la TBG augmente avec la concentration en T4 de l'échantillon considéré jusqu'à un certain plateau atteint lorsqu'elle est saturée. Ce plateau correspond donc à la CF maximum de la TBG vis à vis de la T4, du plasma étudié (ici : 25,6 µg T4/100 ml de plasma). Notons que ce plateau n'est jamais rigoureusement horizontal. Ceci vient du fait que pour de fortes concentrations en T4 (≥ 250 µg/100 ml), le pic RA correspondant à la TBG est faible et s'individualise mal de celui correspondant à l'albumine, de sorte que l'erreur commise sur l'évaluation de son pourcentage est très importante.

Le problème de l'évaluation de ce pic est une des difficultés majeures de la détermination de la CF de la TBG par électrophorèse à contre-courant. Ceci et l'erreur commise sur l'évaluation de la quantité de T4 froide ajoutée à l'échantillon doivent faire considérer les résultats concernant cette CF avec prudence. Une correction importante pourrait être apportée par l'élimination préalable de l'albumine plasmatique (par le bleu sepharose) et le dosage direct de la T4 (T4 endogène + T4 froide exogène) réellement présente dans chaque échantillon avant d'ajouter la T4 marquée.

Ces deux précautions n'ayant pu être prises lors de la détermination de la CF des sérums étudiés avant et après traitement de l'hyperthyroïdie, nos résultats doivent être interprétés avec réserve.

3) Autres PARAMETRES DETERMINES

T4 plasmatique endogène : dosage par compétition Tetrasorb (Abbott). Valeurs normales : 4 à 11 µg/100ml soit 51,5 à 141,6 µmoles/l

ECHANTILLON	T4 ENDOGENE (μ g/100 ml)	T4 EXOGENE		T4 TOTALE (μ g/100 ml)	% de RA correspondant à la TBG	Quantité de T fixée sur la TBG (μ g/100 ml)
		125 I-T4 (μ g/100ml)	T4 froide (μ g/100ml)			
1	8,2	40	0	48,2	38,8	18,7
2	"	"	25	73,2	27,2	19,9
3	"	"	50	98,2	23	22,6
4	"	"	125	173,2	14,8	25,6
5	"	"	500	548,2	4	21,9
6	"	"	1000	1048,2	1,6	16,8

TABLEAU I

EVALUATION DE LA QUANTITE DE T4 FIXEE SUR LA TBG POUR DIFFERENTES
CONCENTRATIONS PLASMATIQUES EN THYROXINE

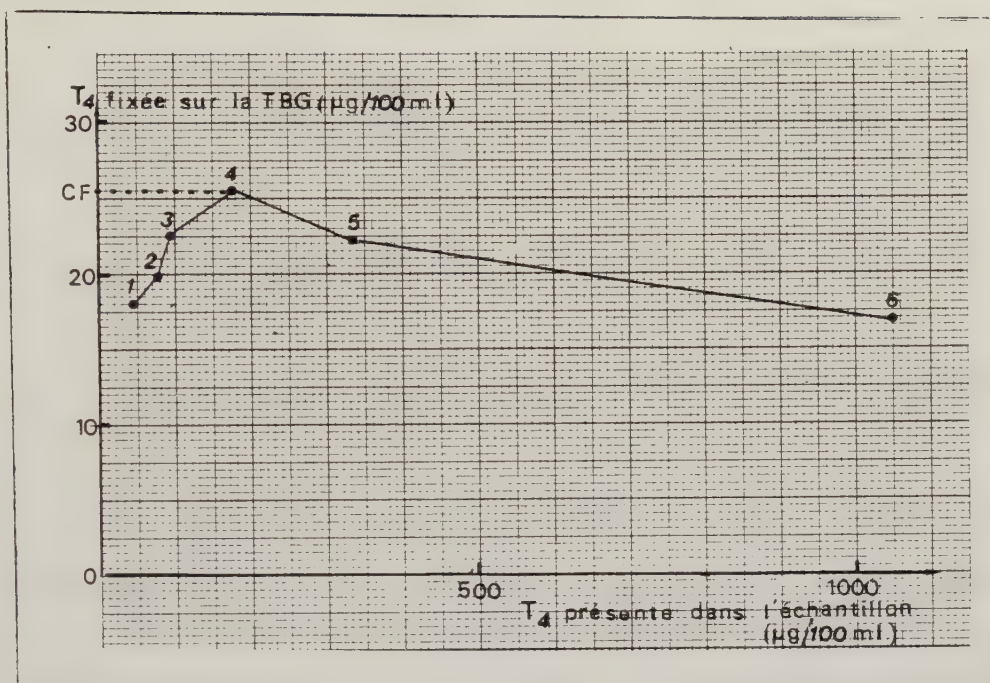


Figure 10. Quantité de T_4 fixée sur la TBG pour des concentrations plasmatiques croissantes de cette hormone

Le point 4 correspond à la capacité de fixation (CF) maximum de ce plasma.

T3 plasmatique endogène : dosage radioimmunologique Service d'endocrinologie du
Pr. MORNEX - hôpital de l'Antiquaille LYON.

N = 107 n g/100 ml - Valeurs extrêmes : 55 - 175

soit 1,64 μ moles/l - Valeurs extrêmes : 0,84 - 2,69

Test de captation Triosorb (Abbott) N = 25 % - valeurs extrêmes : 21 - 34

ITL : produit T4 plasmatique endogène x Triosorb. N $\pm$ 2,1 à 4,9

Taux de protéines sériques : détermination par réfractométrie (Bausch et Lomb).

Rapport T4/TBG : pour chacun des sérums testés le rapport T4/TBG a été évalué, T4
et TBG étant exprimés en moles/l et la masse molaire de la TBG ayant été fixée à
50 000.

CHAPITRE II

RESULTATS

=====

1) SUJETS EUTHYROIDIENS

Les résultats concernant les différents paramètres déterminés chez les 59 sujets témoins sont regroupés dans le tableau I où figurent moyennes et écarts.types.

a - Etude des taux plasmatiques de TBG

Il apparaît que le taux sérique de TBG est de $2,32 \pm 0,53$ mg/100 ml. L'histogramme correspondant à cette population témoin est représenté dans la figure 1.

Nous avons comparé cette distribution aux distributions théoriques normale et Lognormale au moyen d'un test du χ^2 . Il en résulte que la distribution des taux plasmatiques de TBG de la population témoin étudiée est plus proche de la distribution Lognormale avec un degré de signification de 0,259 (degré de signification pour la comparaison avec la distribution normale : 0,07) l'intervalle de confiance à 95 % est donc asymétrique par rapport à la moyenne : $1,44 - 3,56$ mg/100 ml. Les effectifs théoriques de chaque classe sont représentés dans la courbe superposée à l'histogramme.

Sur la représentation graphique de la densité de probabilité (figure 2) sont indiqués mode, médiane et moyenne.

Les résultats concernant l'étude des taux de TBG chez les sujets euthyroïdiens en fonction du sexe, sont regroupés dans le tableau II.

	HOMMES	FEMMES
n	30	23
TBG (mg/100 ml)	$2,25 \pm 0,48$	$2,44 \pm 0,59$

TABLEAU II

ETUDE DES TAUX MOYENS PLASMATIQUES DE TBG CHEZ LE SUJET EUTHYROIDIEN EN FONCTION DU SEXE (MOYENNE $\pm$ ECART TYPE).

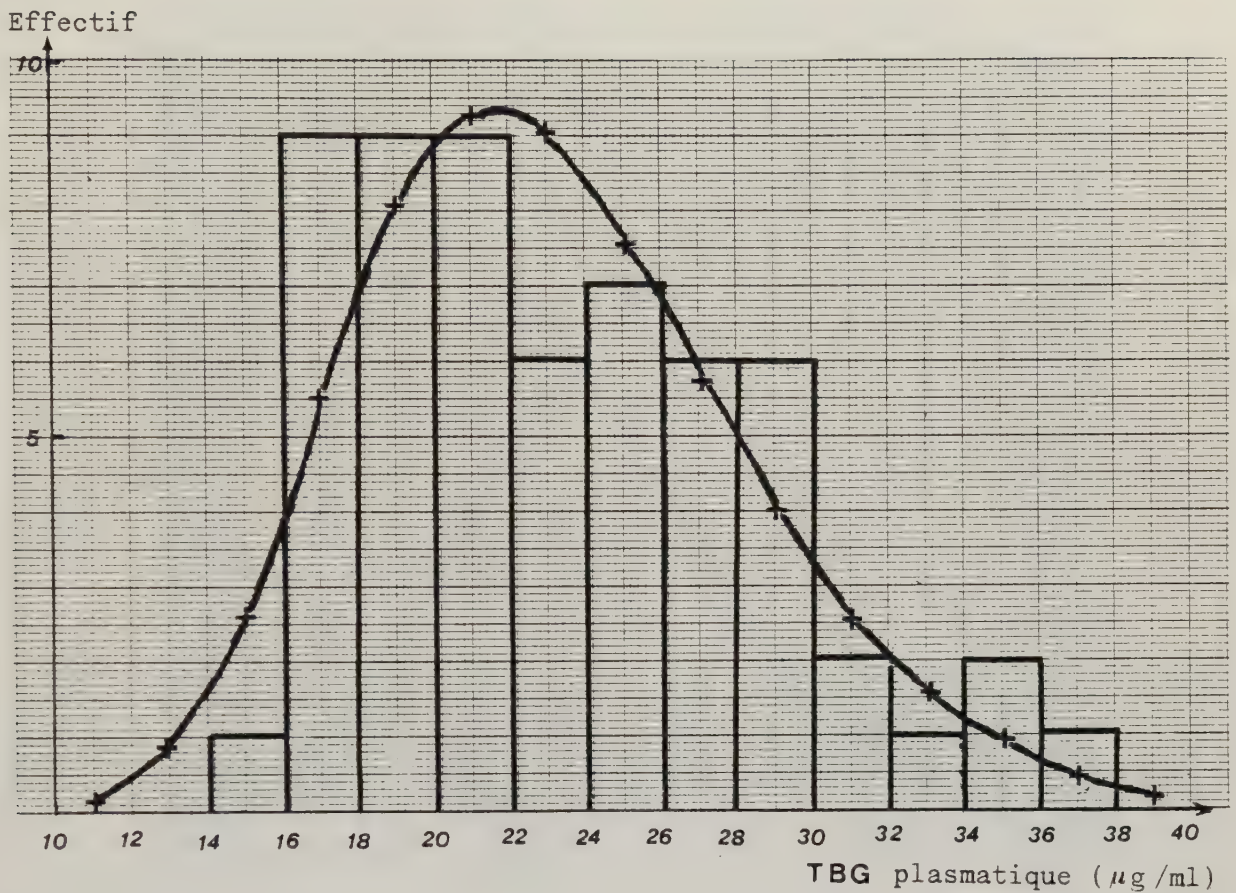


Figure 1. Distribution logarithmique normale des taux plasmatiques de TBG chez une population de 59 sujets euthyroïdiens.

Histogramme et effectifs théoriques de chaque classe :
 au centre de chaque classe figure une croix représentant
 l'effectif théorique de cette classe.

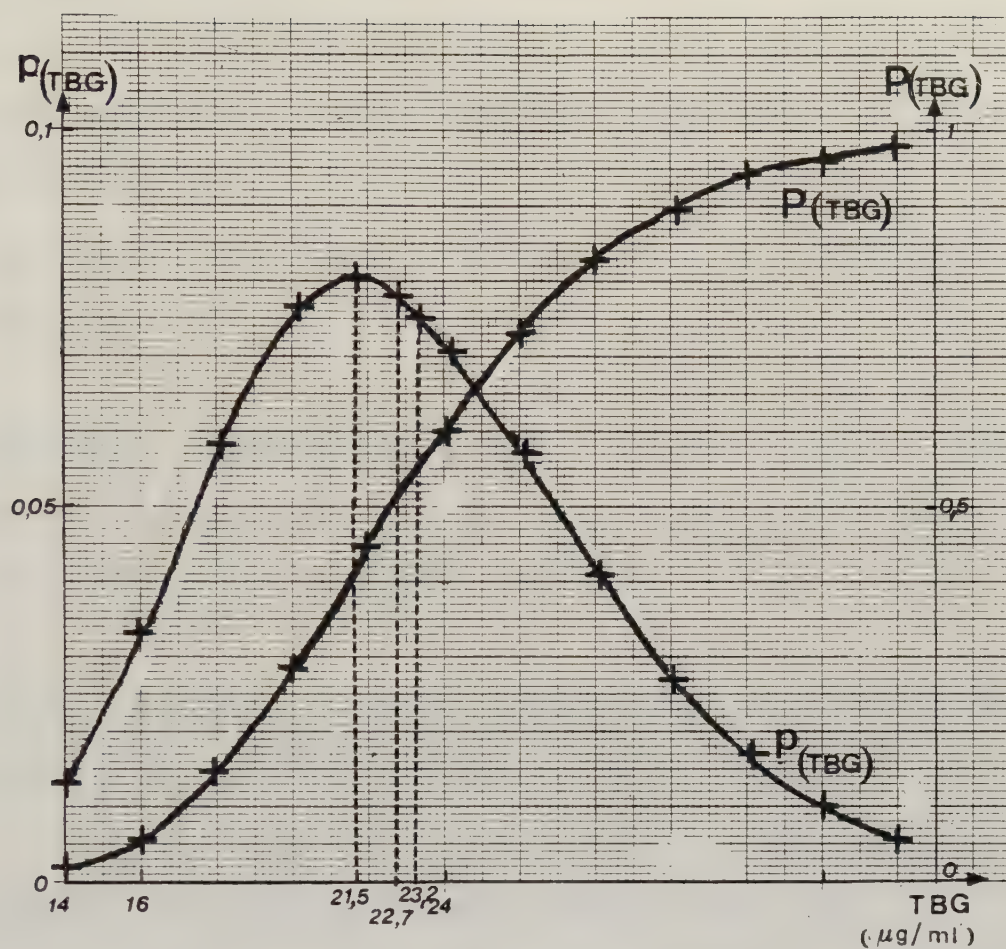


Figure 2. Densité de probabilité (p) et probabilités cumulées (P) des taux plasmatiques de TBG (sujets euthyroïdiens)

p : densité de probabilité - P : probabilités cumulées

Mode = 21,5 ; Médiane = 22,7 ; Moyenne = 23,2

La comparaison de ces taux moyens n'a pas permis de mettre en évidence de différence significative.

b - Etude corrélatrice des taux plasmatiques de TBG avec les taux plasmatiques de T3 et T4

Cette étude montre l'existence de corrélations entre T4 et TBG d'une part, T3 et TBG d'autre part.

Ces corrélations sont très comparables avec $r = 0,309$, $n = 56$, $p < 0,05$ pour la première et $r = 0,303$, $n = 59$, $p < 0,05$ pour la seconde. Leurs représentations graphiques sont données dans les figures 3 et 4.

Chez le sujet euthyroïdien, il existe donc une corrélation entre les taux plasmatiques hormonaux en T3 et T4 et les taux de TBG.

c - Evaluation du rapport T4/TBG chez le sujet euthyroïdien

Ce rapport appartenant à la catégorie des tests appréciant indirectement la fraction libre de T4. Il est parfois préféré par certains auteurs à l'indice de thyroxine libre, mais pour d'autres il aurait une valeur discriminante entre eu et hyperthyroïdie inférieure à l'ITL.

La valeur moyenne obtenue chez 55 sujets euthyroïdiens est de $0,229 \pm 0,058$.

Les résultats concernant l'étude corrélatrice $ITL - \frac{T4}{TBG}$ ainsi que l'appréciation de la valeur discriminante de l'un et l'autre paramètres seront donnés avec l'étude des sujets hyperthyroïdiens, puisqu'ils concernent à la fois sujets eu et hyperthyroïdiens.

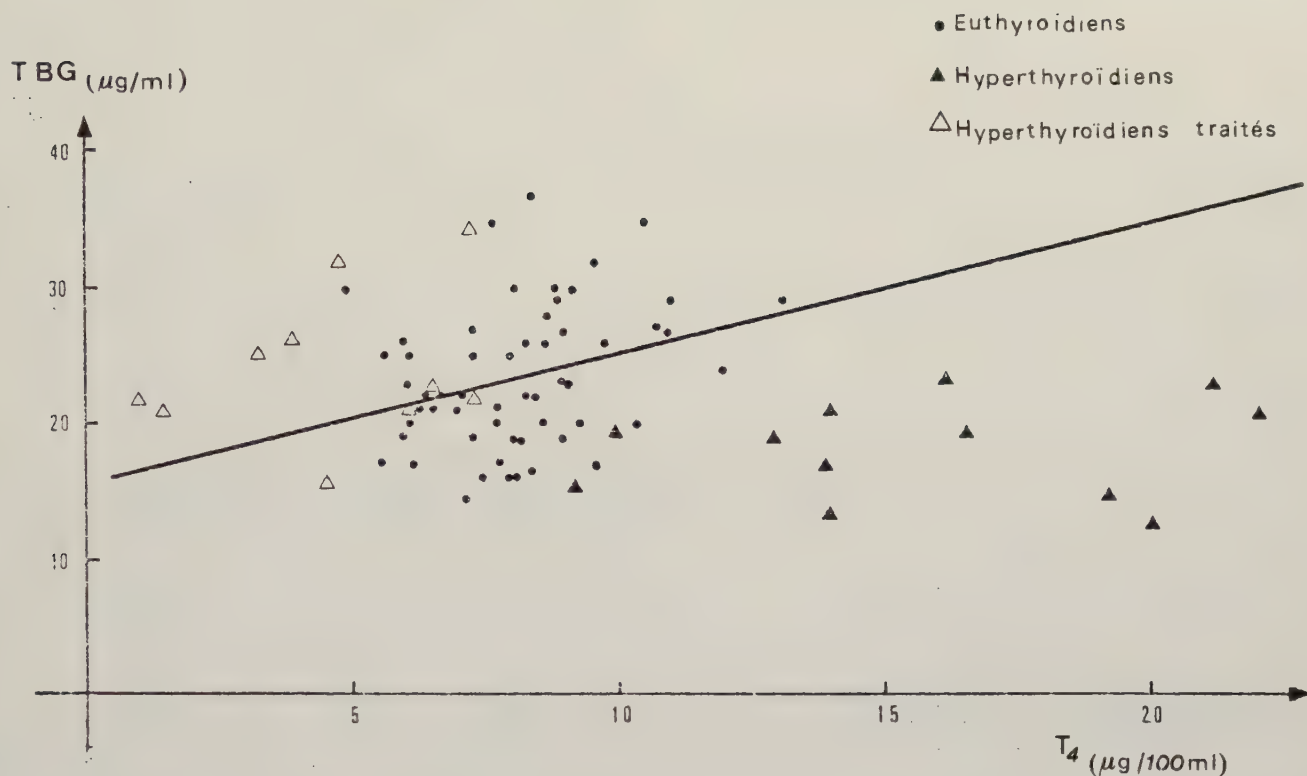


Figure 3. Corrélation entre les concentrations plasmatiques de T_4 et de TBG chez le sujet euthyroïdien, hyperthyroïdien et hyperthyroïdien traité

Alors qu'il existe une corrélation ($r = 0,309$) entre les taux plasmatiques de T_4 et de TBG chez le sujet euthyroïdien, il n'en existe pas chez le sujet hyperthyroïdien, que ce soit avant ou après traitement.

La droite représente la corrélation existant chez le sujet euthyroïdien.

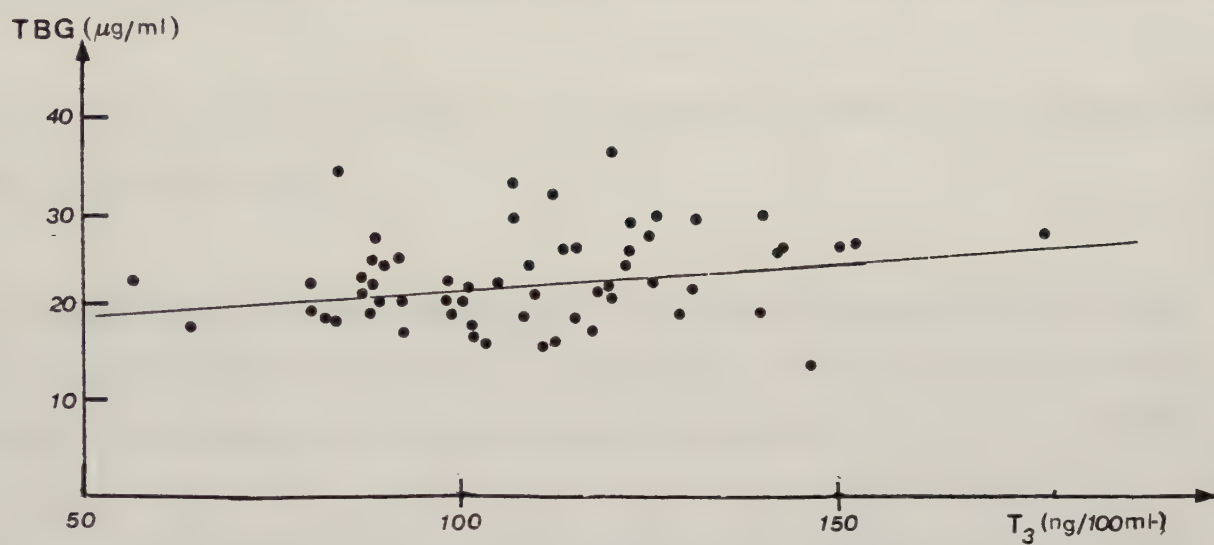


Figure 4. Corrélation entre les concentrations plasmatiques de T_3 et de TBG chez le sujet euthyroïdien.

2) SUJETS HYPERTHYROIDIENS

Les résultats concernent 18 sujets atteints de maladie de Basedow parmi lesquels 10 ont également été testés après traitement.

Les paramètres concernant les 18 sujets hyperthyroïdiens figurent dans le tableau III.

Nous avons isolé dans le tableau I, les résultats concernant les 10 sujets testés avant et après traitement.

a - Comparaison des taux plasmatiques de TBG des 18 sujets hyperthyroïdiens ($1,83 \pm 0,37$ mg/100 ml) à celle des 59 sujets témoins ($2,32 \pm 0,53$ mg/100 ml). Il apparaît qu'il existe une différence significative entre elles avec $p < 0,0005$.

De même, on retrouve une différence significative de ces moyennes lorsque l'on compare le groupe des 10 sujets hyperthyroïdiens isolés à celui des témoins avec $p < 0,005$.

Par contre, après traitement ($m = 2,40 \pm 0,56$ mg/100 ml), nous n'avons pas établi statistiquement de différence significative entre la moyenne du groupe des 10 sujets traités et celle du groupe des témoins.

b - Etude de la variation des taux de TBG chez 10 sujets hyperthyroïdiens avant et après traitement.

La figure 5 illustre les variations des taux plasmatiques de TBG chez chacun des 10 sujets hyperthyroïdiens après traitement, sauf chez un des sujets dont le taux de TBG diminue très légèrement, tous les taux de TBG augmentent après traitement.

L'étude statistique par test t apparié montre qu'il existe une augmentation significative des taux de TBG après traitement avec $t = 4,115$, $p < 0,0025$.

	T4 microg/100 ml	T4 nmoles/l	T3 ng/100 ml	T3 n moles/l	TBG mg/100 ml	TBG nmoles/l	Trisorb %	ITL	T4/TBG
m	20,31	261,4	343,83	5,28	1,83	390,6	39,06	8,22	0,746
e	+ 7,99	+ 102,8	+ 173,87	+ 2,67	+ 0,37	+ 68,4	+ 6,84	+ 4,18	+ 0,336

m moyenne

e écart-type

* calcul effectué en ayant fixé la masse molaire de la TBG à 50 000

TABLEAU III

SUJETS HYPERTHYROIDIENS AVANT TRAITEMENT
(n = 18)

		T4 microg/ 100 ml	T4 nmoles/l	T3 ng/100 ml	T3 nmoles/l	TBG mg/100 ml	TBG nmoles/l	Triosorb %	ITL	T4/TBG
avant trai- tement	m e	17,26 + 6,98 _	222,1 + 89,8 _	335,50 + 200,96 _	5,15 + 3,09 _	1,89 + 0,31 _	378,6 + 61,5 _	38,98 + 6,56 _	7,07 + 4,03 _	0,595 + 0,252 _
après traitement	m e	4,57 + 2,25 _	58,8 + 28,9 _	100,00 + 43,94 _	1,54 + 0,67 _	2,40 + 0,56 _	481,0 + 111,2 _	24,97 + 4,80 _	1,01 + 0,64 _	0,125 + 0,065 _

m moyenne

e écart type

* calcul effectué en ayant fixé la masse molaire de la TBG à 50 000

TABLEAU IV

SUJETS HYPERTHYROIDIENS AVANT ET APRES TRAITEMENT (n=16)

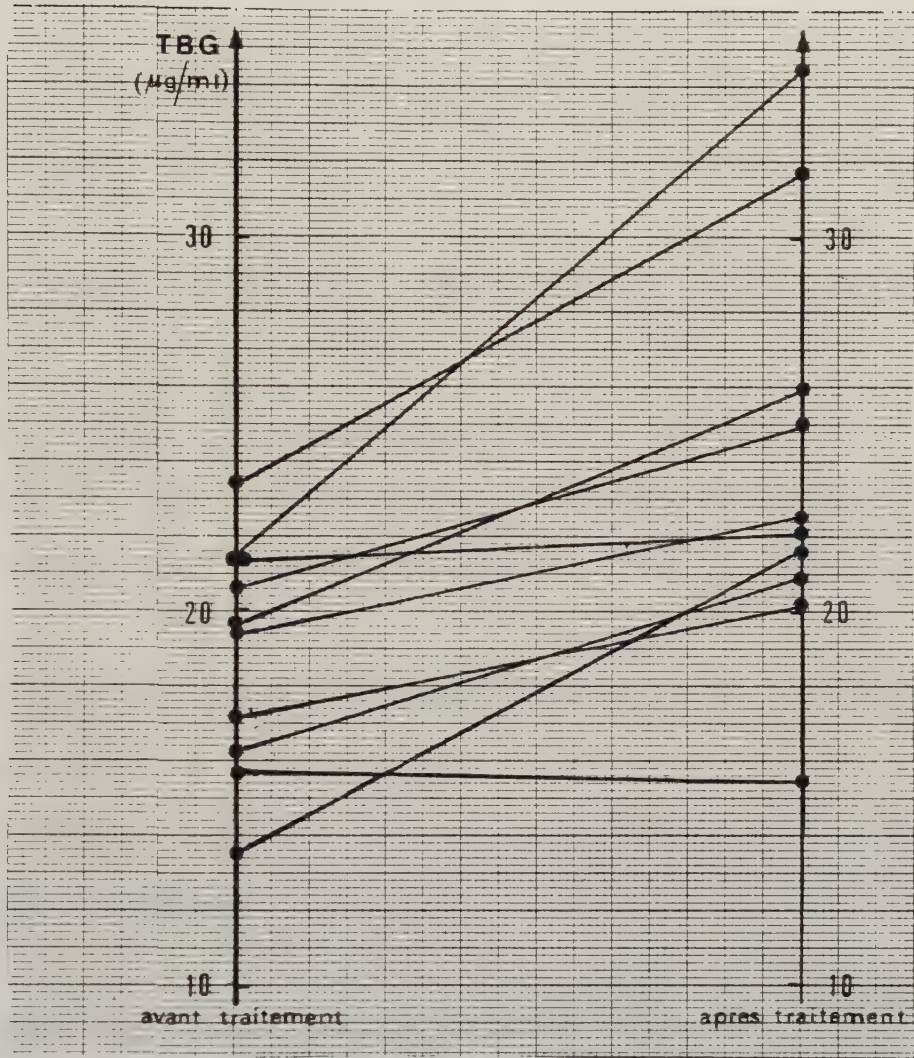


Figure 5. Evolution des taux plasmatiques de TBG chez 10 sujets atteints de maladie de Basedow, après traitement.

c - Etude corrélative des taux plasmatiques de TBG avec les taux plasmatiques de T3 et T4 chez les sujets hyperthyroïdiens avant et après traitement.

Il n'existe pas de corrélation chez le sujet hyperthyroïdien, que ce soit avant ou après traitement, entre les taux de TBG et ceux de T3 ou T4. (cf. Figure 3).

d - Etude de la corrélation ITL - T4/TBG chez les sujets euthyroïdiens et hyperthyroïdiens

Cette étude a concerné globalement sujets témoins, hyperthyroïdiens et hyperthyroïdiens traités. la figure 6 illustre l'existence d'une très bonne corrélation entre l'ITL et le rapport T4/TBG avec $r = 0,945$ pour $n = 84$, $p < 0,0005$.

e - Comparaison des valeurs discriminantes de l'ITL et du rapport T4/TBG entre eu et hyperthyroïdie

La figure 7 illustre les valeurs de l'ITL et du rapport T4/TBG chez les sujets témoins et hyperthyroïdiens.

Il apparait sur cette figure que les valeurs de l'ITL chez le sujet euthyroïdien, sont plus groupées que celles du rapport T4/TBG.

Plus précisément, nous avons testé les distributions de l'ITL et du rapport T4/TBG chez les témoins contre les distributions normale et lognormale au moyen d'un test du χ^2 . Il apparait qu'elles sont toutes deux plus proches d'une distribution Lognormale avec un degré de signification de 0,9945 pour l'ITL et de 0,1904 pour le rapport T4/TBG.

Les figures 8 et 9 représentent les histogrammes ainsi que les effectifs théoriques de chaque classe de l'ITL et du rapport T4/TBG chez les témoins.

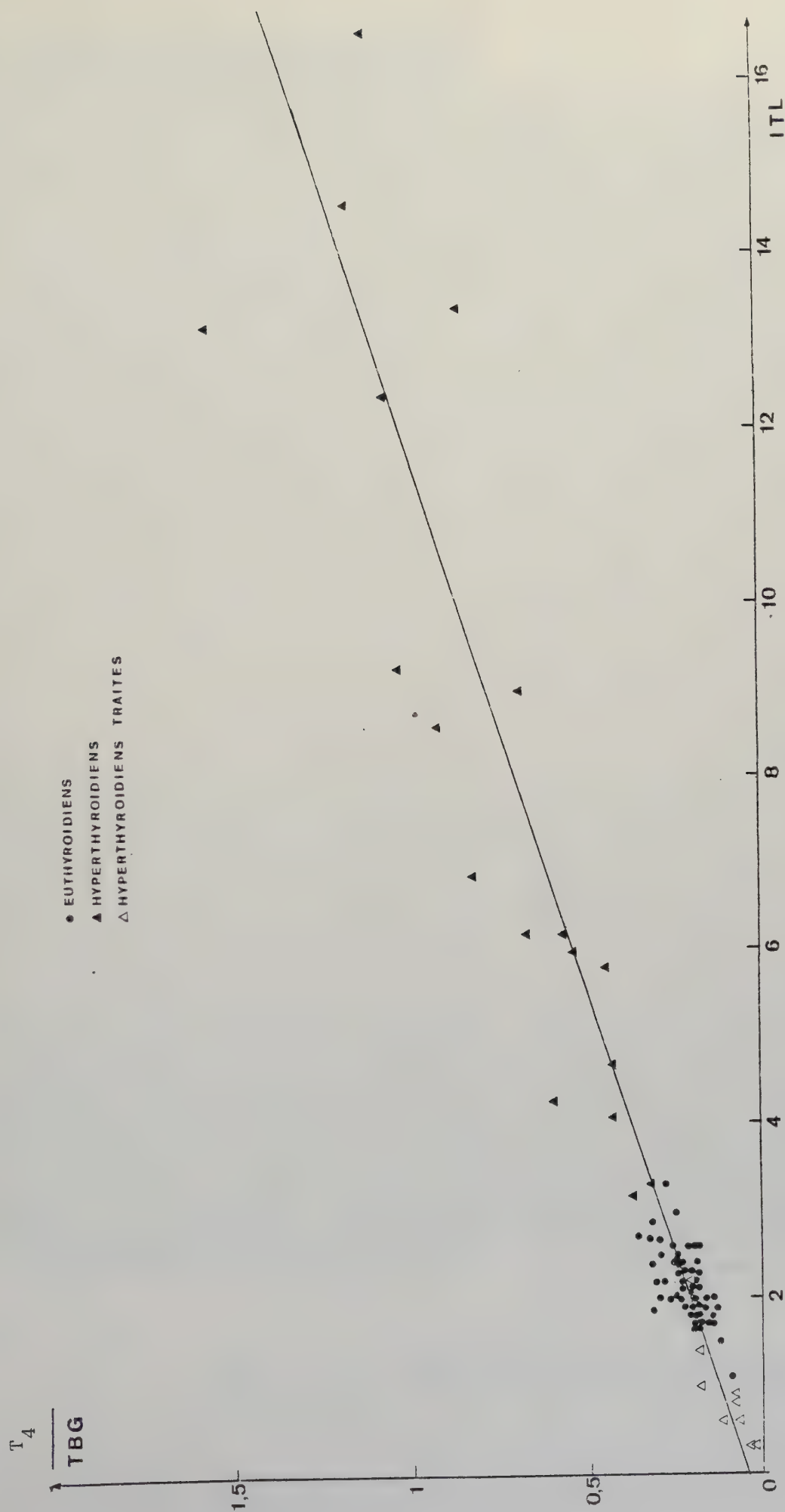


Figure 6. Corrélation entre ITL et rapport T_4 / TBG

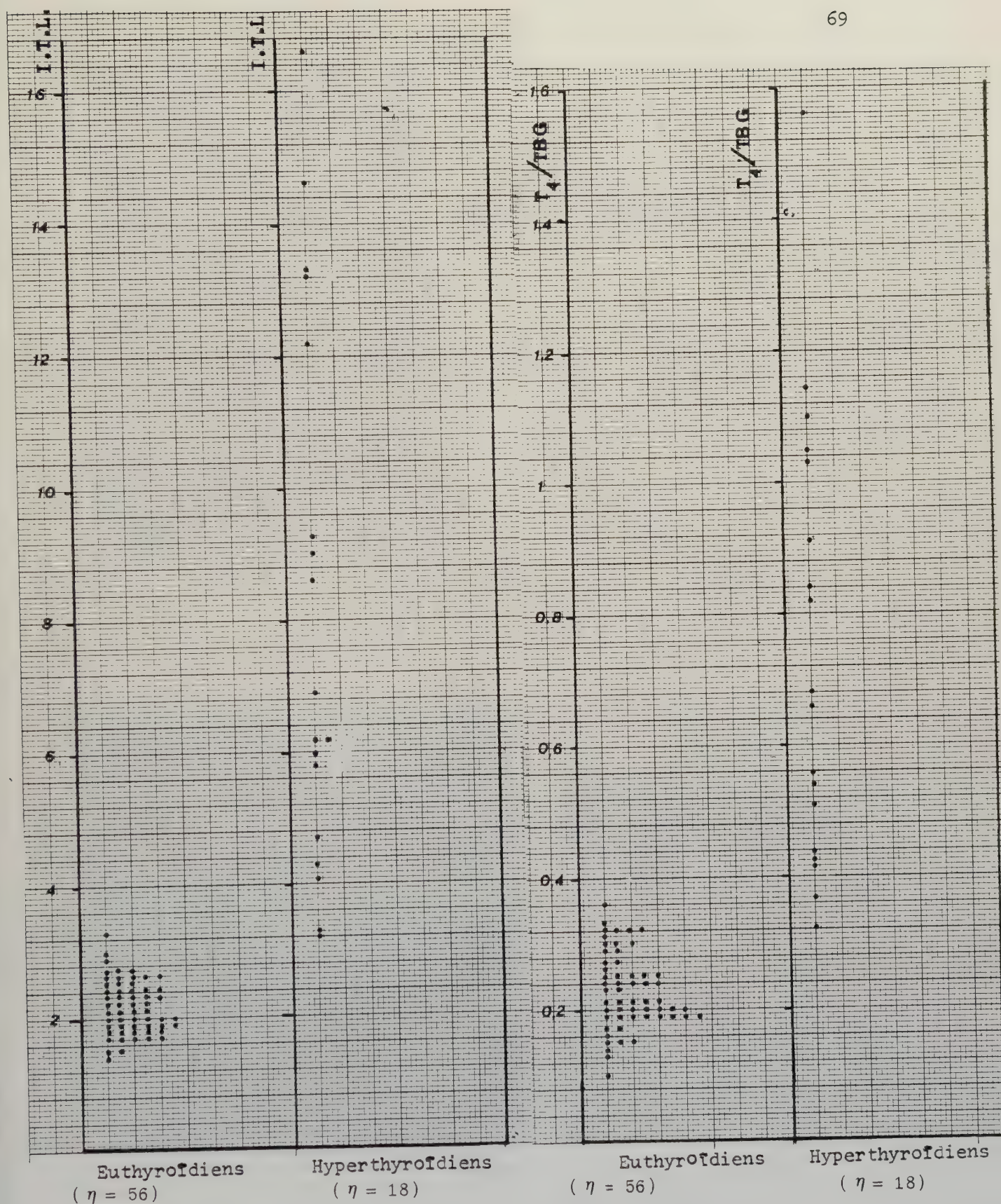


Figure 7. Valeurs de l'I.T.L. et du rapport T_4/TBG chez le sujet euthyroïdien et le sujet hyperthyroïdien.

(η = effectif)

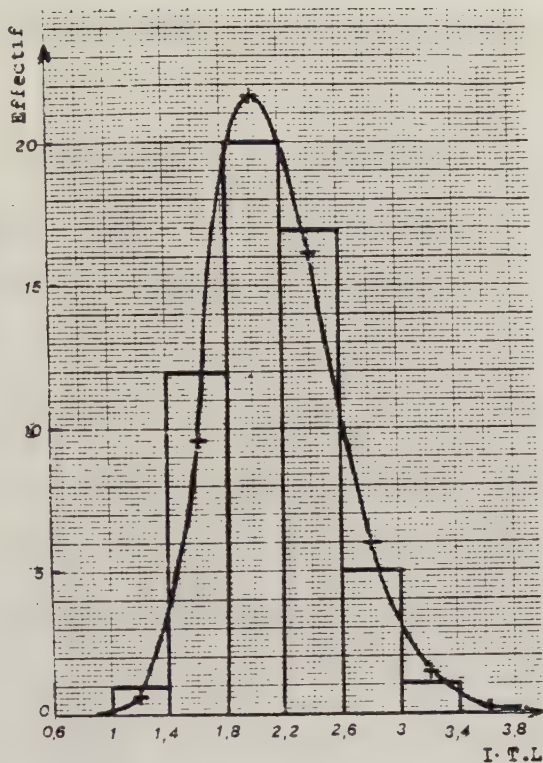


Figure 8.

Histogramme et effectifs théoriques de chaque classe de l'I.T.L. chez 56 sujets euthyroïdiens.

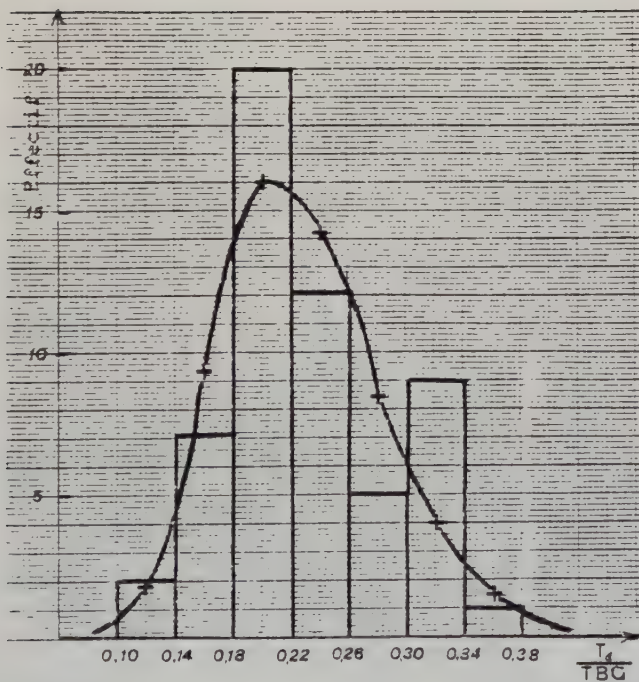


Figure 9.

Histogramme et effectifs théoriques de chaque classe du rapport T_4/TBG chez 56 sujets euthyroïdiens.

Sur les figures 10 et 11 qui représentent les fonctions densité de probabilité correspondantes et les probabilités cumulées, figurent modes, médianes et moyennes.

La comparaison des coefficients de variation $V = \frac{e}{m}$ (m = moyenne, e = écart-type) montre qu'il est supérieur pour le rapport T4/TBG ($V = \frac{0,058}{0,229} = 0,253$) à celui de l'ITL ($V = \frac{0,405}{2,165} = 0,187$).

Il n'était pas possible d'étudier la distribution de l'ITL et du rapport T4/TBG chez les sujets hyperthyroïdiens étant donné le trop faible effectif dont nous disposions. Notons simplement que pour l'ITL comme pour le rapport T4/TBG les valeurs sont très dispersées.

$V = \frac{4,18}{8,221} = 0,508$ pour l'ITL et $V = \frac{0,336}{0,746} = 0,450$ pour le rapport T4/TBG. La valeur discriminante des deux indices ITL et rapport T4/TBG a été étudiée en déterminant le nombre d'hyperthyroïdiens classés dans la catégorie euthyroïdiens pour 2 valeurs seuil fixées à $m + 2e$ (m = moyenne, e = écart-type) et $m + 3e$.

Les valeurs de l'ITL comme celles du rapport T4/TBG étant distribuées selon des lois Lognormales, nous devons pour déterminer les valeurs seuil $m + 2e$ et $m + 3e$, effectuer le changement de variable $Y = \log x$, x étant selon le cas l'ITL ou le rapport T4/TBG.

Dans ces conditions :

- pour l'ITL

$$\begin{aligned} x &= \text{ITL} & m_x &= 2,16 \\ & & e_x &= 0,405 \\ y &= \log x & m_y &= \log m_x - \frac{1}{2} \log \left(\frac{m_x^2}{e_x^2} + 1 \right) = 0,75283 \\ & & e_y &= \sqrt{\log \left(\frac{m_x^2}{e_x^2} + 1 \right)} = 0,18588 \end{aligned}$$

$$y_1 = m_y + 2 e_y = 1,12459$$

$$x_1 = m_x + 3 e_x = e^{y_1} = 3,079.$$

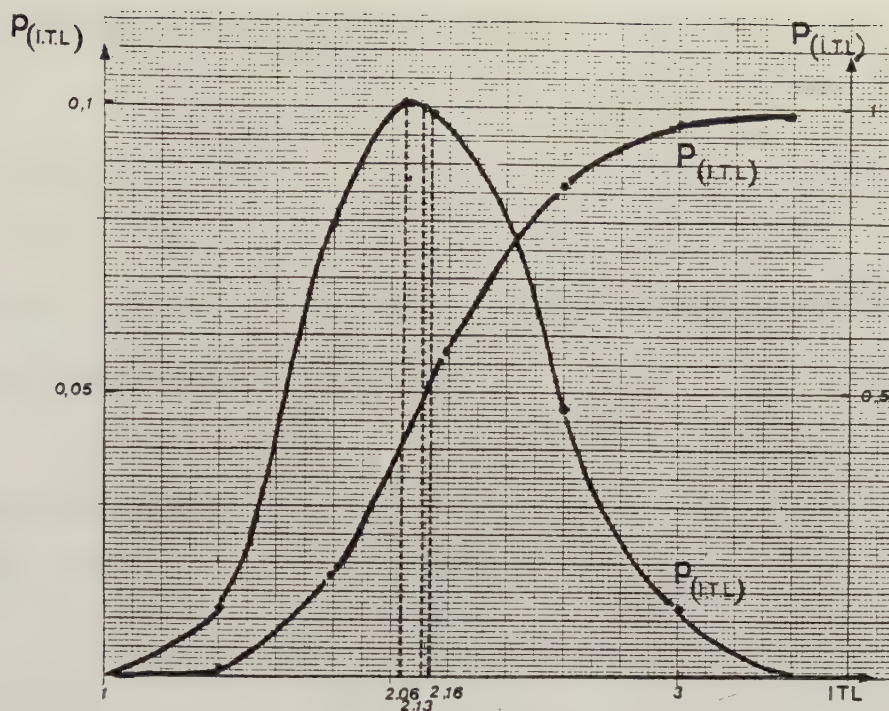


Figure 10. Densité de probabilité (p) et probabilités cumulées (P) de l'ITL (sujets euthyroïdiens).

p = densité de probabilité Mode = 2,06
 P = probabilités cumulées Médiane = 2,13
 Moyenne = 2,16

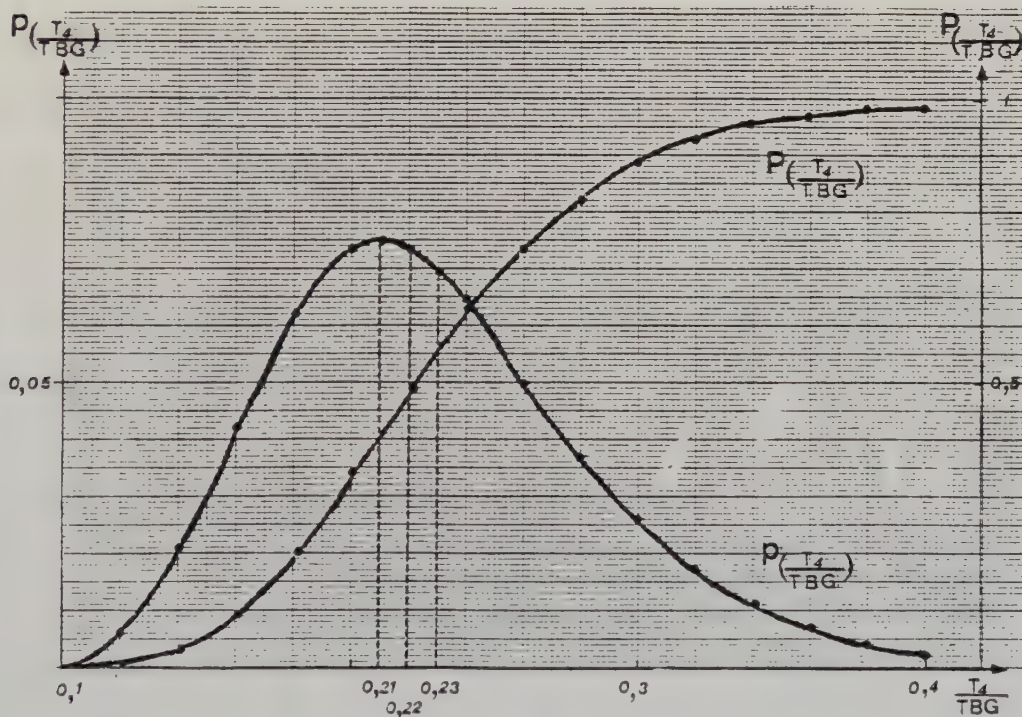


Figure 11. Densité de probabilité (p) et probabilités cumulées (P) du rapport T_4 / TBG (sujets euthyroïdiens)

p = densité de probabilité ; P = probabilités cumulées

Mode = 0,21 ; Médiane = 0,22 ; Moyenne = 0,23

Pour la valeur seuil $m + 2e = 3,079$, le nombre d'hyperthyroïdiens mal classés dans la catégorie euthyroïdiens est nul.

$$y_2 = m_y + 3 e_y = 1,31047$$

$$x_2 = m_x + 3 e_x = e^{y_2} = 3,708$$

Pour la valeur seuil $m + 3e = 3,708$, le nombre d'hyperthyroïdiens mal classés dans la catégorie euthyroïdiens est de : 2.

- Pour le rapport T4/TBG :

$$x = T4/TBG \quad m_x = 0,229$$

$$e_x = 0,058$$

$$y = \text{Log } x \quad m_y = - 1,50512$$

$$e_y = 0,24935$$

$$y_1 = m_y + 2 e_y = - 1,00642$$

$$x_1 = m_x + 2 e_x = e^{y_1} = 0,365.$$

Pour la valeur seuil $m + 2e = 0,365$, le nombre d'hyperthyroïdiens mal classés dans la catégorie euthyroïdiens est de : 1.

$$y_2 = m_y + 3e_y = - 0,75707$$

$$x_2 = m_x + 3e_x = e^{y_2} = 0,469$$

Pour la valeur seuil $m + 3e = 0,469$, le nombre d'hyperthyroïdiens mal classés dans la catégorie euthyroïdiens est de : 5.

Ces résultats sont regroupés dans le tableau V :

	Nombre d'hyper. mal classés pour la valeur seuil: $m+2e$	Nbre d'hyper. mal classés pour la valeur seuil $m+3e$
ITL	0	2
T4/TBG	1	5

TABLEAU V

NOMBRE D'HYPERTHYROIDIENS CLASSES DANS LA CATEGORIE EUTHYROIDIENS EN FONCTION DE 2 VALEURS SEUIL ($m + 2e$ et $m + 3e$) PAR L'ITL ET LE RAPPORT T4/TBG.

(EFFECTIF DES HYPERTHYROIDIENS ETUDIES : $n=18$).

Il apparait que l'ITL possède ici une valeur discriminante entre eu et hyperthyroïdie supérieure à celle du rapport T4/TBG. Cependant, les effectifs étudiés sont trop faibles pour que l'on puisse en tirer des conclusions générales.

f - Comparaison de la variation des taux plasmatiques de T3 et T4 à celle des taux de TBG chez l'hyperthyroïdiens après traitement.

Les variations des taux plasmatiques de T3 (Δ T3) et T4 (Δ T4) de chacun des 10 sujets étudiés avant et après traitement ainsi que celles des taux de TBG figurent dans le tableau VI.

SUJET	Δ T3 (mg/100 ml)	Δ T4 (μ g/100 ml)	Δ TBG (mg/100 ml)
1	- 152	- 18,8	0,45
2	- 135	- 12,7	0,64
3	- 185	- 11,8	0,82
4	- 244	- 12,9	0,80
5	- 517	- 23	0,47
6	- 594	- 20,9	1,30
7	- 64	- 4,7	- 0,02
8	- 146	- 12,4	0,3
9	- 105	- 6,7	0,07
10	- 213	- 3,4	0,29

TABLEAU VI

VARIATIONS DES TAUX PLASMATIQUES DE T3, T4 et TBG CHEZ 10 SUJETS

HYPERTHYROIDIDIENS APRES TRAITEMENT.

Δ T3 = Taux plasmatique de T3 après traitement - Taux plasmatique de T3 avant traitement.

Δ T4 et Δ TBG ont été déterminés de la même façon.

Le nombre de cas étudiés étant insuffisant pour admettre une distribution normale des paramètres ΔT_3 , ΔT_4 et ΔTBG , nous avons utilisé le test de Spearman pour montrer qu'il existe une corrélation négative entre :

ΔT_3 et ΔTBG avec $r = 0,697$, $p < 0,005$.

Il existe de même une corrélation négative entre ΔT_4 et ΔTBG avec $r = 0,636$, $p < 0,05$.

L'augmentation du taux de TBG chez le sujet hyperthyroïdien après traitement est donc corrélée à la diminution des taux hormonaux en T_3 et T_4 .

g - Comparaison de la variation des taux de protéines totales à celle des taux de TBG des sujets hyperthyroïdiens après traitement.

Dans le tableau VII figurent les taux de protéines totales des sujets hyperthyroïdiens avant et après traitement ainsi que les variations de ceux-ci et celles des taux de TBG.

SUJET	PROTEINES PLASMATIQUES AV. TRAITE- MENT (g/l)	PROTEINES PLASMATIQUES AP. TRAITE- MENT (g/l)	ΔP (g/l)	ΔTBG (mg/100 ml)
1	74	82	8	0,45
2	65	76	11	0,64
3	69	79	10	0,82
4	57	65	8	0,80
5	-	71	-	0,47
6	69	78	9	1,30
7	67	67	0	- 0,02
8	65	69	4	0,30
9	61	55	- 6	0,07
10	72	74	2	0,29

TABLEAU VII
VARIATIONS DES TAUX PLASMATIQUES DE PROTEINES TOTALES (P) et de TBG
CHEZ 10 SUJETS HYPERTHYROIDIENS APRES TRAITEMENT.

Le test de Spearman montre qu'il existe une corrélation entre ΔP et ΔTBG avec $r = 0,854$, $p < 0,01$.

L'augmentation du taux de TBG chez les sujets hyperthyroïdiens après traitement, est donc corrélée à celle des taux de protéines totales.

h - Comparaison de la variation de l'ITL et du Test Triosorb à celle des taux de TBG chez les sujets hyperthyroïdiens après traitement.

Les valeurs du Triosorb, de l'ITL ainsi que les triosorb, ΔITL ΔTBG figurent dans le tableau VIII.

Le test de Spearman montre qu'il existe une corrélation entre, d'une part, Δ triosorb et ΔTBG avec $r = - 0,806$, $p < 0,01$ et, d'autre part, ΔITL et ΔTBG avec $r = - 0,697$, $p < 0,05$.

Chez le sujet hyperthyroïdien traité l'augmentation de TBG est donc corrélée avec la diminution du test triosorb et de l'ITL.

i - Etude de la capacité de fixation maximum de la TBG chez 5 sujets hyperthyroïdiens avant et après traitement. Comparaison des taux de TBG obtenus par méthode indirecte (CF) à ceux obtenus par méthode directe (RIA).

Les CF et la TBG pour la T4 déterminées chez cinq sujets hyperthyroïdiens avant et après traitement figurent dans le tableau IX.

SUJET	Triosorb avant traitement	Triosorb après traitement	Δ Triosorb	ITL avant traitement	ITL après traitement	Δ ITL	Δ TBG
	%	%	%				mg/100 ml
1	41,0	20,4	- 20,6	9,02	0,65	- 8,37	0,45
2	36,4	22,0	- 14,4	6,01	0,84	- 5,17	0,64
3	36,2	18,5	- 17,7	5,83	0,87	- 4,96	0,82
4	44,9	28,3	- 16,6	6,24	0,28	- 5,96	0,80
5	50,0	26,2	- 23,8	14,60	0,97	- 13,63	0,47
6	47,8	19,3	- 28,5	13,43	0,62	- 12,81	1,30
7	35,0	31,2	- 3,8	3,22	1,4	- 1,82	- 0,02
8	30,9	24,0	- 6,9	4,26	0,34	- 3,92	0,3
9	33,8	31,1	- 2,7	4,70	2,24	- 2,46	0,07
10	33,8	28,7	- 5,1	3,35	1,87	- 1,48	0,29

TABLEAU VIII

VARIATION DU TEST TRIOSORB, DE L'ITL ET DU TAUX PLASMATIQUE DE TBG CHEZ 10 SUJETS HYPERTHYROIDIENS APRES TRAITEMENT.

SUJET	CF AVANT TRAITEMENT (μ g T4/100 ml)	CF APRES TRAITEMENT (μ g T4/100 ml)
2	28,9	69,4
3	18	91,9
4	17,8	38,9
6	28	81,5
10	19,5	32,5
m	22,44	62,84
e	5,53	26,12

TABLEAU IX

CAPACITES DE FIXATION MAXIMUM (CF) DE LA TBG PLASMATIQUE VIS A VIS DE LA THYROXINE, DE 5 SUJETS HYPERTHYROIDIENS AVANT ET APRES TRAITEMENT.

La capacité de fixation permet, on l'a vu, de déterminer indirectement le taux plasmatique de TBG correspondant, en admettant qu'une mole de TBG fixe une mole de T4 : il suffit d'exprimer la CF en nombre de moles de T4/100 ml de plasma pour connaître le nombre de moles de TBG présentes dans le même volume plasmatique. Cette concentration molaire est ensuite convertie en concentration pondérale, la masse molaire de la TBG ayant été fixée à 60 000.

Les résultats de ces calculs sont indiqués dans le tableau X où figurent également les taux de TBG obtenus par dosage radioimmunologique.

	AVANT TRAITEMENT		APRES TRAITEMENT	
SUJET	TBG DETERMINATION PAR CB (mg/100 ml)	TBG DETERMINATION PAR RIA (mg/100 ml)	TBG DETERMINATION PAR CF (mg/100 ml)	TBC DETERMINATION PAR RIA (mg/100 ml)
2	2,23	1,97	5,36	2,61
3	1,39	2,35	7,09	3,17
4	1,37	1,36	3,00	2,16
6	2,16	2,14	6,29	3,44
10	1,51	1,96	2,51	2,25

TABLEAU X

Les couples de valeurs obtenues pour chaque sujet par les deux méthodes de dosage avant traitement, ont été testées par test t apparié. Il n'a pas été établi de différence statistiquement significative entre ces résultats ($t = -1,032$), qui sont donc concordants.

Le même test a été appliqué aux couples de valeurs obtenues après traitement. Dans ce cas, les résultats sont significativement différents ($t = 3,120$, $\Delta < 0,05$).

Par contre, si l'on double les valeurs obtenues par dosage radioimmunologique (cf. tableau XI), le test t apparié appliqué aux nouveaux couples de valeurs : CF - RIA X 2, n'établit pas de différence statistiquement significative entre ces résultats. ($t = -1,226$)

APRES TRAITEMENT		
SUJET N°	TBG DETERMINATION PAR CF (mg/100 ml)	TBG X 2 DETERMINATION PAR RIA (mg/100 ml)
2	5,36	5,22
3	7,09	6,34
4	3,00	4,32
6	6,29	6,88
10	2,51	4,50

TABLEAU XI

Les valeurs obtenues par la capacité de fixation sont donc doubles de celles obtenues par dosage radioimmunologique.

CHAPITRE III

DISCUSSION

Chez les sujets euthyroïdiens, la valeur moyenne des taux plasmatiques de TBG : $2,32 \pm 0,53$ mg/100 ml que nous avons établie, est assez éloignée des valeurs obtenues par :

LEVY (52), $m = 3,6$ mg/100 ml (RIA)

HESCH (33) $m = 0,97 \pm 0,14$ mg/100 ml (RIA)

par contre, elle est proche de celles obtenues par :

CHOPRA (10) , $m = 2,85 \pm 0,08$ mg/100 ml (CLBA)

CAVALIERI (9), $m = 2,15 \pm 0,51$ mg/100 ml (RIA)

RUDORFF (88), $m = 2,55 \pm 0,50$ mg/100 ml (CLBA)

VACHECK (105), $m = 2,06 \pm 0,48$ mg/100 ml (RIA)

BISSET (4), $m = 2,11 \pm 0,39$ mg/100 ml (RIA)

moyenne $\pm$ écart-type.

La discordance de ces résultats reconnaît plusieurs causes que ce soit l'hétérogénéité des méthodes de dosage utilisées par les différents auteurs, la plus ou moins grande spécificité des anticorps employés, ou la pureté plus ou moins réelle de la TBG utilisée. Il n'est pas possible actuellement de donner de valeur absolue de la concentration en TBG chez l'euthyroïdien puisque les valeurs obtenues dépendent du type de dosage utilisé et, pour un même type de dosage, des conditions dans lesquelles il est réalisé. Il n'existe pas à l'heure actuelle de préparation standard de valeur internationale.

L'étude de la distribution des taux plasmatiques de TBG dans la population de témoins que nous avons étudiés, a montré qu'elle était proche d'une distribution Log-normale. De ce fait, l'intervalle de confiance à 95 % est asymétrique de part et d'autre de la moyenne : $1,44$ - $3,56$ ^{mg/100 ml} . Il montre une assez grande dispersion des taux de TBG chez les sujets euthyroïdiens.

Nous n'avons pas retrouvé comme certains auteurs de variations des taux de TBG en fonction du sexe (taux moyen chez 36 hommes : $2,25 \pm 0,48$ mg/100 ml, taux moyen chez 23 femmes : $2,44 \pm 0,58$ mg/100 ml).

Chez les sujets hyperthyroïdiens (groupe de 18 sujets) le taux moyen de TBG plasmatique, $1,83 \pm 0,37$ mg/100 ml est significativement abaissé par rapport à la normale. La diminution des taux de la principale protéine de transport de T3 et T4, semble donc concourir avec l'hyperproduction thyroïdienne à l'augmentation de la fraction libre de ces hormones. Cette diminution, on l'a vu, n'est pas retrouvée par certains auteurs tels HESCH (33), WACHECK (105) ou DISSET (4), par contre elle est significative pour LEVY (52), CHOPRA (10) et RUDORFF (88).

A propos de la discordance de ces résultats, il faut noter qu'ils ont été obtenus le plus souvent sur un nombre relativement restreint d'individus, que les critères de sélection des hyperthyroïdiens n'ont pas forcément été identiques d'un auteur à un autre, et qu'il existe une assez grande dispersion des taux de TBG plasmatique chez le sujet euthyroïdien, rendant difficile la mise en évidence d'une augmentation peu importante de ces taux lors d'hyperthyroïdie.

Aussi, les taux de TBG n'apportent-ils pas par eux-mêmes de renseignements dans un bilan d'hyperthyroïdie et doivent-ils être associés à ceux des taux de T4 plasmatique totale en un rapport T4/TBG pour être significatifs.

Cet indice, comme l'ITL, constitue un moyen d'approche indirect de la fraction libre hormonale, mais il ne tient compte que de la principale protéine de transport de hormones alors que l'ITL fait aussi intervenir la TDPA et la TBA.

D'un autre côté, les deux paramètres du rapport T4/TBG sont déterminés par dosage radioimmunologique, technique plus sensible que celle employée pour la réalisation

du test de captation (triosorb) nécessaire à la détermination de l'ITL. Les valeurs respectives des deux indices sont actuellement mises en compétition et les préférences de différents auteurs sont partagées.

La valeur moyenne du rapport T4/TBG dans notre groupe témoin est de $0,229 \pm 0,058$, chez les hyperthyroïdiens (groupe de 18 sujets) elle est de $0,744 \pm 0,336$.

Il existe une très bonne corrélation dans ces deux groupes d'individus entre les valeurs de l'ITL et celle du rapport T4/TBG ($r = 0,945$, $p < 0,001$).

L'étude de la valeur discriminante entre eu et hyperthyroïdie de ces deux indices, est ici en faveur de l'ITL. Cependant, le nombre d'hyperthyroïdiens étudiés est trop faible pour que l'on puisse en tirer des conclusions générales.

Chez le sujet euthyroïdien, il existe une corrélation entre les taux plasmatiques de TBG et ceux des hormones ($r = 0,303$, $p < 0,05$ pour T3 et $r = 0,309$, $p < 0,05$ pour T4). S'il est reconnu que les taux hormonaux sont adaptés à ceux de la TBG (les déficits congénitaux en TBG s'accompagnent d'une diminution de l'hormonémie totale, l'augmentation des taux de TBG induite par les oestrogènes d'une augmentation de l'hormonémie totale) on peut envisager une éventuelle influence des taux hormonaux sur ceux de la TBG. En effet, il a été montré par GERSHENGORN (19) que les hormones thyroïdiennes exerçaient in vitro un effet biphasique sur la production hépatique de TBG, l'augmentant à dose physiologique et la diminuant pour des doses supérieures. La figure 1 illustre cet effet biphasique hormonal obtenu sur culture cellulaire d'hépatocarcinome de singe rhésus.

Chez le sujet hyperthyroïdien (groupe de 18 sujets) il n'existe plus aucune corrélation entre les taux hormonaux et les taux de TBG plasmatiques qui sont significa-

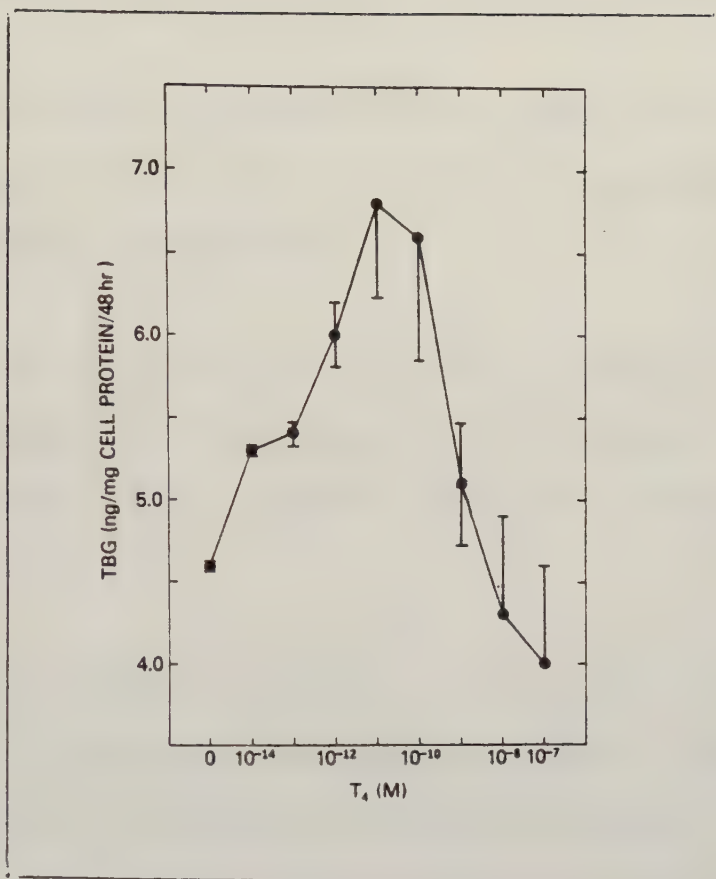


Figure 1. Vitesse d'accumulation de la TBG dans le milieu de culture cellulaire d'hépatocarcinome de singe en fonction de la concentration en thyroxine de ce milieu.
(d'après GERSHENGORN & coll. (19))

tivement abaissés par rapport à la normale ($1,83 \pm 0,37$ mg/100 ml). Chez les 10 sujets ayant permis l'étude comparative avant-après traitement, le taux moyen de TBG plasmatique est de $1,89 \pm 0,31$ mg/100 ml avant traitement.

L'évolution de ces taux après guérison se fait dans le sens d'une nette augmentation (test t apparié : $t = 4,115$, $p < 0,0025$). Les taux recouvrent ainsi des valeurs hormonales. ($2,40 \pm 0,56$ mg/100 ml).

L'augmentation des taux de TBG qui est corrélée à celle des taux de protéines sériques est proportionnelle à la diminution des taux hormonaux ($r = 0,897$, $p < 0,05$ pour la corrélation $\Delta T3 - \Delta TBG$ et $r = 0,636$, $p < 0,05$ pour la corrélation $\Delta T4 - \Delta TBG$.)

Ceci semble donc confirmer l'influence des hormones sur le métabolisme de la TBG, la diminution de l'hormonémie étant un facteur contrôlé, imposé par le traitement et l'augmentation de la TBG étant donc forcément secondaire à la variation hormonale.

Il existe peu d'études métaboliques de la TBG réalisées chez l'homme actuellement. Les résultats obtenus par CAVALIERI (9) et REFETOFF (80) (cf. tableau XIII - page 37) sont très variables à l'intérieur d'un même groupe d'un sujet à un autre. Parmi les quatre cas d'hypothyroïdie étudiés par CAVALIERI un seul montre une prolongation du temps de demi-vie (10,9 jours au lieu de 5,01). La vitesse de renouvellement est normale chez les quatre sujets et l'auteur n'a pas trouvé de corrélation entre les taux plasmatiques de TBG et la vitesse de renouvellement de cette protéine que ce soit chez les témoins ou les hypothyroïdiens. De même, parmi les trois sujets hypothyroïdiens étudiés par REFETOFF, un seul montre une augmentation du temps de demi-vie (6,17 jours au lieu de 5,29) et du volume de distribution de cette protéine (10,15 litres au lieu de 7,23 litres). Les deux sujets hyperthyroïdiens étudiés par REFETOFF ont des temps de demi-vie de la TBG diminués par rapport à la normale (3,58 et 3,55 jours au lieu de 5,29 jours).

Ces deux études ne permettent donc pas de conclusions concernant le mécanisme pathogène des variations des taux de TBG décrites lors de dysthyroïdie. Certains renseignements pourraient sans doute être apportés par une étude métabolique comparative chez des sujets hyper ou hypothyroïdiens avant et après traitement.

La détermination de la capacité de fixation maximum de la TBG pour la T4 (électrophorèse à contre courant tampon trismaléate, pH 8,6) a été effectuée chez cinq sujets hyperthyroïdiens avant et après traitement. Cette CF permet d'obtenir indirectement les taux plasmatiques de TBG en admettant qu'une mole de TBG fixe une mole de T4 et que la masse molaire de la TBG soit de 50 000.

La comparaison des taux calculés par cette méthode à ceux déterminés directement par dosage radioimmunologique, montre une assez bonne concordance en ce qui concerne les taux des sujets malades. Par contre, lorsque les sujets ont été traités, les taux obtenus à partir de la CF sont en moyenne doubles de ceux déterminés directement. Il semblerait donc qu'après traitement, la TBG des sujets hyperthyroïdiens ait une affinité pour la T4 double par rapport à la normale. Cependant, il est beaucoup plus vraisemblable que les difficultés techniques de séparation de la TBG et de l'albumine rencontrées lors de l'électrophorèse à contre courant, ainsi que l'erreur commise sur l'évaluation de la quantité de T4 ajoutée au plasma étudié pour la détermination de la CF, soient à l'origine de la discordance des résultats. En effet, ces causes d'erreur sont d'autant plus importantes que les taux de TBG sont élevés (ce qui est le cas des malades traités). Néanmoins, la capacité de fixation reste une appréciation intéressante de l'activité biologique de la TBG et les problèmes techniques doivent pouvoir se résoudre par élimination de l'albumine des plasmas étudiés (bleu sépharose) et dosage de la T4 présente dans chaque échantillon.

Conclusions

La presque totalité des hormones thyroïdiennes circule dans le plasma sous forme liée à des protéines : seules, environ 0,03 à 0,05 % de la thyroxine (T_4) et 0,3 % de la tri-iodothyronine (T_3) se trouvent sous forme libre. Le système de transport plasmatique est constitué de trois protéines dont la plus importante est la Thyroxine-Binding Globulin (TBG), glycoprotéine migrant à l'électrophorèse en position inter $\alpha 1 - \alpha 2$ globulines, de masse molaire comprise entre 50 et 60 000, synthétisée au niveau du foie et dont la demi-vie est de 5 jours environ. La très forte affinité de cette protéine pour les hormones thyroïdiennes ($K = 10^{10} \text{ m}^{-1}$ pour T_4 et $K = 10^8 \text{ m}^{-1}$ pour T_3) fait qu'en dépit d'une faible concentration plasmatique (10 à 20 $\mu\text{g/ml}$), elle fixe une proportion importante de ces hormones. Les deux autres protéines sont la Thyroxine-Binding Prealbumin (TBPA) et l'albumine.

Le faible taux plasmatique de la TBG constitue un obstacle majeur à sa purification ; jusqu'à ces dernières années, les taux plasmatiques de cette protéine étaient évalués à partir de sa capacité de fixation de la thyroxine, c'est-à-dire de la quantité de T_4 fixée à saturation. Depuis 1971, des techniques radio-immunologiques ont été appliquées au dosage de la TBG plasmatique. Lors d'hyperthyroïdie, les taux sont, selon les auteurs, tantôt normaux, tantôt abaissés. On peut expliquer la divergence de ces résultats par l'existence d'une assez grande dispersion des taux de TBG chez l'individu normal, rendant difficile la mise en évidence d'une diminution peu importante de ces taux en cas d'hyperthyroïdie. Aussi, avons-nous entrepris d'étudier l'évolution des taux plasmatiques de TBG

chez un groupe de sujets atteints de maladie de Basedow, en comparant pour chaque sujet les valeurs obtenues avant et après guérison obtenue par traitement médical et/ou chirurgical.

Nous avons effectué le dosage de la TBG plasmatique par méthode radio-immunologique (RIA - GNOST, TBG Behring) chez 59 sujets témoins (36 hommes et 23 femmes) et 18 sujets atteints de maladie de Basedow, parmi lesquels 10 ont fait l'objet d'une étude comparative avant et après traitement.

Chez les sujets euthyroïdiens, le taux plasmatique moyen de TBG est de $23,25 \mu\text{g/ml}$, intervalle de confiance à 95%: $14,45 - 35,57 \mu\text{g/ml}$. Il existe une corrélation entre les taux des hormones thyroïdiennes et ceux de la TBG ($r = 0,302$, $p < 0,05$ pour T_4 et $r = 0,309$, $p < 0,05$ pour T_3).

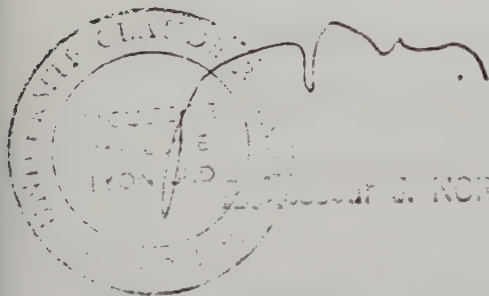
Chez les sujets hyperthyroïdiens (groupe de 18 sujets), le taux plasmatique moyen de TBG ($18,29 \pm 3,75 \mu\text{g/ml}$) est significativement abaissé par rapport à la normale. Cette diminution contribue sans doute avec l'hyperproduction thyroïdienne, à l'augmentation de la fraction libre hormonale. Il n'existe plus aucune corrélation entre le taux de TBG et les taux hormonaux.

Chez les 10 sujets étudiés avant et après traitement, il existe une nette augmentation des taux de TBG lors du retour à l'euthyroïdie (test t apparié : $p < 0,0025$). L'augmentation de ces taux est corrélée avec la diminution des taux hormonaux ($r = -0,636$, $p < 0,05$ pour T_4 et $r = -0,697$, $p < 0,05$ pour T_3).

Ces résultats permettent d'envisager l'influence chez l'homme des hormones thyroïdiennes sur le métabolisme de la TBG. Les taux sériques abaissés de TBG que nous avons constatés chez le sujet hyperthyroïdien, peuvent être liés à une diminution de la synthèse, ou une augmentation du catabolisme de cette protéine. Une réponse pourrait être apportée par mesure de la clearance métabolique de la TBG chez des groupes de sujets hyper et hypothyroïdiens, avant et après traitement.

Nous avons effectué, parallèlement au dosage radio-immunologique, la détermination indirecte des taux de TBG à partir de sa capacité de fixation de la T_4 , chez cinq sujets hyperthyroïdiens (méthode d'électrophorèse à contre-courant, tampon Tris-maléate, pH 8,6). Les chiffres obtenus par cette méthode ne sont pas significativement différents de ceux trouvés par dosage RIA chez les malades avant traitement. Par contre, après retour à l'euthyroïdie, les taux obtenus par méthode indirecte sont, en moyenne, le double de ceux obtenus par dosage RIA. Il semblerait donc qu'après traitement de l'hyperthyroïdie, la TBG puisse fixer une quantité double de T_4 par rapport à la normale. Cependant, la méthode d'électrophorèse à contre-courant se heurte à des difficultés techniques de séparation de l'albumine et de la TBG, causes d'erreurs d'autant plus importantes que les taux de TBG sont élevés (cas des hyperthyroïdiens traités). Aussi conviendrait-il d'évaluer à nouveau les capacités de fixation de la TBG après avoir éliminé l'albumine des serums étudiés (bleu Sepharose).

Vu, Le Doyen de la Faculté
de Médecine Lyon Sud



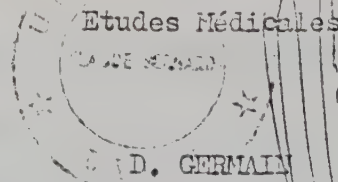
Le Président de la Thèse
(Nom et signature)

P. Luyet

Vu et Permis d'imprimer
Lyon, le

1 MAR 1970

Le Président de l'Université Claude Bernard
Président du Comité de Coordination des
Etudes Médicales



B I B L I O G R A P H I E

- (1) BANOS C., TAKO J. - Thyroxine binding of plasma proteins in autoimmune thyroiditis.
Acta Endocrinol., 1971, 66, 162 - 168.

- (2) BESNARD J.C. - Contribution à l'étude du comportement des composés iodés du sérum et détermination des isothermes de liaison de la thyroxine avec les protéines plasmatiques.
Thèse de Doctorat d'Etat en Pharmacie, Tours, 1972.

- (3) BESSON R. - Methodes d'exploration thyroïdienne invitro.
Ann. Biol. Clin., 1968, 26, 567 - 581.

- (4) LISSET J.P., SAUVAN R., ROUX F., HOURTOULE P., - Dosage radioimmunologique de la globuline fixant la thyroxine - Intérêt pratique.
Nouv. Presse Med., 1978, 7, 2841 - 2844.

- (5) BLUMBERG B.S., FARER L., RALL J.E., ROBBINS J. - Thyroxine serum protein complexes : two dimension gel and paper electrophoresis studies.
Endocrinology, 1961, 68, 25 - 35.

- (6) BLUMBERG B.S., ROBBINS J. - Thyroxine serum protein complexes : single dimension gel and paper electrophoresis studies.
Endocrinology, 1960, 67, 368 - 378.

- (7) BODE H.H., ROTHMAN K.J., DANON M. - Linkage of thyroxine-binding globulin deficiency to other X - chromosome loci.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 1973, 37, 25 - 29.

- (8) BROWN M.S., GOLDSTEIN J.L., Receptor mediated control of cholesterol metabolism.
Science, 1976, 150 - 154.
- (9) CAVALIERI R.R., McMAHON F.A., CASTLE J.N. - Preparation of ^{125}I -Labeled human thyroxine-binding alpha globulin and its turnover in normal and hypothyroid subjects.
J. Clin. Invest., 1975, 56, 79, 87
- (10) CHOPRA I.J., SOLOMON D.H., HO R.S. - Competitive ligand-binding assay for measurement of thyroxine-binding globulin (TBG).
J. Clin. Endocrinol. Metab., 1972, 35, 565 - 573.
- (11) DAVIS P.J., GREGERMAN R.I. - Separation of thyroxine-binding proteins in human serum at pH 7.4 II - Effect of pH and temperature on the binding capacities of thyroxine-binding globulin (TBG) and thyroxine-binding prealbumin (TBPA).
J. Clin. Endocrinol. Metab., 1971, 33, 699 - 708.
- (12) DEISS W.P. - Transport of the thyroid hormones.
Fed. Proc., 1962, 21, 630.
- (13) DE NAYER P., VAN DEN SCHRIECK H.G., DE VISSCHER M. - Le transport sérique de la thyroxine chez l'enfant.
Ann. Endocrinol., 1965, 26, 360.

- (14) DI GIULIO W., MICHALAK Z., WEINHOLD P.A., HAMILTON J.R., THOMA G.E. - Use of agar gel electrophoresis and autoradiography to measure thyroxine-binding protein capacities.
J. Lab. Clin. Med., 1964, 64, 349.
- (15) DUSSAULT J.H., FISHER D.A., NICLOFF J.T., ROWE V.V., VOLPE R. - The effect of alteration of thyroxine binding capacity on the dializable and absolute fractions of triiodothyronine in circulation.
Acta Endocrinol., 1973, 72, 265,-271.
- (16) ELEWANT A. - Determination of the binding of thyroxine, to plasma proteins by competitive protein-binding analysis.
Clin. Chim. Acta, 1973, 45, 37 - 46.
- (17) FERGUSSON R.N., EDELHOCH H., SAROFF H., ROBBINS J., - Negative cooperativity in the binding of thyroxine to human serum prealbumin.
Biochem, 1975, 14, 282 - 289.
- (18) GERSHENGORN M.C., CHENG S.Y., LIPPOLDT R.E., LORD R.S., ROBBINS J. - Structure and stability of human thyroxine-binding globulin.
J. Biol. Chem., 1977, 252, 8719 - 8723.
- (19) GERSHENGORN M.C., GLINOER D., FOX S.H., ROBBINS J. - Thyroxine-binding globulin synthesis by hepatocarcinoma cells, in continuous culture : effect of physiological concentrations of thyroxine.
Biochem. Biophys. Res. Commun., 1976, 71, 76 - 82.

- (20) GERSHENGORN M.C., LARSEN P.R., ROBBINS J., - radioimmunoassay for serum thyroxine - binding globulin : results in normal subjects and in patients with hepatocellular carcinoma j. Clin. Endocrinol. Metab., 1976, 42, 907 - 911.

- (21) GIORGIO NA., TABACHNICK M. - Thyroxine protein interactions. V - Isolation and characterization of a thyroxine-binding globulin from human plasma. J. Biol. Chem., 1968, 243, 2247 - 2259.

- (22) GLINDER D., GERSHENGORN M.C., ROBBINS J., Thyroxine-binding globulin biosynthesis in isolated monkey hepatocytes. Biochim. Biophys. Acta, 1976, 418, 232 - 244.

- (23) GORDON A.H., GROSS J., O'CONNOR D., PITT-RIVERS R. - Nature of the circulating thyroid hormone-plasma protein complex. Nature, 1952, 169, 19 - 20.

- (24) GREEN A.M., MARSHALL J.S., PENSKY J., STANBURY J.B. - Studies on thyroxine binding globulin. IV - The interaction of thyroxine with thyroxine-binding globulin. Biochem. Biophys. Acta, 1972, 278, 117 - 124.

- (25) GREEN A.M., MARSHALL J.S., PENSKY J., STANBURY J.B. - Thyroxine-binding globulin : characterization of the binding site with a fluorescent dye as a probe. Science, 1972, 175, 1378 - 1380.

- (26) GUERIN M.T. - Méthode d'évaluation des fractions protéiques sériques capables de fixer la thyroxine (T.B.P.)
Rev. Franç. Et. Clin Biol., 1964, 9, 342.
- (27) GUERIN M.T., TUBIANA M. - Résultats du dosage des protéines vectrices de l'hormone thyroïdienne (TBG et TBPA) chez les hyperthyroïdiens et les cancéreux.
Ann. Endocr., 1964, 25, 475 - 480.
- (28) GUERIN M.T., TUBIANA M. - Dosage par saturation de la T.B.G. et de la T.B.-P.A. plasmatique chez l'homme. Méthodes et résultats.
Strahlentherapie, 1965, 60, 378.
- (29) HAMADA S., NAKAGAWA T., MORI J., TORIZUKA K. - Re-evaluation of thyroxine binding and free thyroxine in human serum by paper electrophoresis and equilibrium dialysis and a new free thyroxine index.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 1970, 31, 166 - 179.
- (30) HANSEN J.M., SIERSBAEK - NIELSEN K. - Quantitative determination of TBG in familial elevation of serum thyroxine binding capacity of TBG.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 1972, 35, 461 - 462.
- (31) HAO Y.L., TABACHNICK M. - Thyroxine-protein interactions. VII - Effect of thyroxine analogs on the binding of ^{125}I -Thyroxine to highly purified human thyroxine-binding globulin.
Endocrinology, 1971, 88, 81 - 92.

- (32) HELLER J. Interactions of plasma retinol -binding protein with its receptor. Specific binding of bovine and human retinol binding protein to pigment epithelium cells from bovine eyes.
J. Biol. Chem., 1975, 250, 3613 - 3619.
- (33) HESCH R.D., GATZ J., McINTOSH C.H.S., JANZEN J., HEHRMANN R. - Radioimmunoassay of thyroxine binding globulin in human plasma.
Clin. Chim. Acta, 1976, 70, 33 - 42.
- (34) HOCH H., LEWALLEN C.G., LOW affinity binding of thyroxine to proteins of human serum.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 1974, 38, 663 - 673.
- (35) INADA M., STERLING K. - Thyroxine transport in thyrotoxicosis and hypothyroidism.
J. Clin. Invest. , 1967, 46, 1442 - 1450.
- (36) INADA M. , STERLING K. - Thyroxine turnover and transport in active acromegaly.
J. Clin. Endocrinol. Metab. , 1967, 27, 1019 - 1027.
- (37) INGBAR S.H. - Prealbumin : a thyroxine - binding protein of human plasma.
Endocrinology, 1958, 63, 256 - 259.
- (38) INGBAR S.H., FREINKEL N. - Regulation of peripheral metabolism of the thyroid hormones
Recent. Progr. Horm. Res., 1960, 16, 353 - 403.

- (39) ITOH K.F., MIYAI K., KIMURA K., ABE H., KUMAHARA Y. - Radioimmuno and paper electrophoretic analysis of 2, 5, 3' - L - triiodothyronine-binding proteins in normal human sera.
Clin. Chim. Acta, 1970, 30, 259 - 266.
- (40) JONES J.E., SEAL U.S., X Chromosome linked inheritance of elevated thyroxine-binding globulin.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 1967, 27, 1521 - 1528.
- (41) KEANE P.M., PEGG P.J., JOHNSON E. - Estimation of thyroxine-binding protein capacities using a non electrophoretic technique.
J. Clin. Endocrinol., 1969, 29, 1126 - 1130.
- (42) KORCEK L., TABACHNICK M., Further characterization of human thyroxine-binding globulin.
Biochim. Biophys. Acta, 1974, 371, 323 - 336.
- (43) LAMBERTS S.J.W., CASPARIE A.F., NIEDEMA K., HENNEMANN G., HULSMANS H.A.M., Thyroxine-binding globulin deficiency in a family with type I hyperlipoproteinemia.
Clin. Endocrinol., 1977, 6, 197 - 206.
- (44) KORCEK L. , TABACHNICK M. - Thyroxine protein interactions.
Interaction of thyroxine and triiodothyronine with human thyroxine-binding globulin
J. Biol. Chem., 1976, 251, 3558 - 3562.

- (45) LARSON F.C., ALBRIGHT E.C. - The specificity of thyroxine binding by serum alpha globulin.
Endocrinology, 1955, 56, 737 - 741.
- (46) LASNE Y., LASNE F., BENZERARA O., Microheterogeneity and polymorphism of human serum thyroxine-binding globulin. Study by isoelectric focusing and radio-print immunofixation.
Biochim. Biophys. Acta, 1980, à paraître.
- (47) LAUNAY M.P. - L'hormone thyroïdienne dans le sang.
Union Med. Canada, 1966, 95, 438.
- (48) LECUREUIL M., LECUREUIL N., CROUZAT-REYNES G., La thyroxine-binding globulin I Purification, caractères physicochimiques et dosage.
Lyon Pharma., 1977, 28, 223 - 237.
- (49) LECUREUIL M., LECUREUIL N., CROUZAT-REYNES G., La thyroxine-binding globulin II Liaison des hormones thyroïdiennes par la TBG.
Lyon Pharm., 1978, 29, 167 - 171.
- (50) LECUREUIL M., LECUREUIL N., CROUZAT-REYNES, Etude de la liaison thyroxine - thyroxine-binding prealbumin par une méthode de dialyse à concentration libre imposée.
Biochim. Biophys. Acta, 1978, 532, 268 - 278.
- (51) LEMARCHAND-BERNAUD T., VANNOTTI A., Transport des hormones thyroïdiennes en pathologie humaine.
Rev. Eur. Endocrin. 1964, 1, 221 - 269.

- (52) LEVY R.P., MARSHALL J.S., VELAYO N.L. - Radioimmunoassay of human thyroxine-binding globulin (TBG).
J. Clin. Endocrinol. Metab. 1971, 32, 372 - 381.
- (53) MARSHALL J.S., LEVY R.P. STEINBERG A.G., human thyroxine-binding globulin deficiency. A genetic study.
N. Engl. J. Med., 1966, 274, 1469 - 1473.
- (54) MARSHALL J.S., PENSKY J., Studies on human thyroxine-binding globulin (TBG).
I Purification of TBG and immunologic studies on the relationship between TBG from normal persons and those with TBG deficiency.
J. Clin. Invest., 1969, 48, 508 - 515.
- (55) MARSHALL J.S., PENSKY J. - Studies on human thyroxine-binding globulin (TBG)
III Some physical characteristics of TBG and its interaction with thyroxine.
Arch. Biochem. Biophys., 1971, 146, 76 - 83.
- (56) MARSHALL J.S., PENSKY J., GREEN A.M. - Studies on human thyroxine-binding globulin - VI The nature of slow thyroxine-binding globulin.
J. Clin. Invest., 1972, 51, 3173 - 3181.
- (57) MARSHALL J.S., PENSKY J., WILLIAMS S., Studies on human thyroxine-binding globulin : VIII Isoelectric focusing evidence for microheterogeneity of thyroxine-binding globulin.
Arch. Biochem. Biophys., 1973, 156, 456 - 462.

- (58) MINCEY E.K., THORSON S.C., BROWN J.L., MORRISON R.T., Mc INTOSH H.W. - A new parameter of thyroid function the effective thyroxine ratio.
J. Nucl. Med. 1972, 13, 165 - 168.
- (59) MIYAI K., ITOH K.F., ABE H., KUMAHARIS Y., Radioimmuno-electrophoretic analysis of thyroxine-binding proteins in normal human sera.
Clin. Chim. Acta, 1968, 22, 341, 347.
- (60) MYANT N.B., OSORIO C. - Competition for triiodothyronine between serum proteins and red cells.
J. Physiol., 1961, 157, 529 - 541.
- (61) NIIMI H., SASAKI N. - Familial thyroxine-binding globulin deficiency in a patient with congenital hypothyroidism.
Endocrinol. Japon., 1975, 22, 35 - 38.
- (62) NIKOLAI T.F., ROBERTS R.C. - Thyroxine-binding globulin (TBG) deficiency. A problem in the diagnosis of thyroid disease.
Arch. Intern. Med., 1969, 124, 691 - 694.
- (63) NILSSON S.F., PETERSON P.A. - Studies on thyroid-hormone binding proteins. I. The subunit structure of human thyroxine binding globulin and its interaction with ligands.
J. Biol. Chem., 1975, 250, 8543 - 8553.
- (64) NILSSON S.F., PETERSON P.A. - Evidence for multiple thyroxine-binding sites in human prealbumin.
J. Biol. Chem., 1971, 246, 6098 - 6105.

- (65) NUSINOWITZ M.L., CLARK R.F., STRADER W.J., ESTRIN N.M., SEAL U.S., Thyroxine binding globulin deficiency in three families and total deficiency in a normal woman.
Am. J. Med. 1971, 50, 458 - 464.
- (66) NUSYNOWITZ M.L., STRADER W.J. - A new estimate of the thyroxine binding globulin capacity.
Am. J. Clin. Pathol., 1972, 58, 718 - 722.
- (67) OPPENHEIMER J.H. - Role of plasma proteins in the binding, distribution and metabolism of the thyroid hormones.
N. Engl. J. Med., 1968, 278, 1153 - 1162.
- (68) OPPENHEIMER J.H. ,SQUEF R. , SURKS M.I., HAUER H., - binding of thyroxine by serum proteins evaluated by equilibrium dialysis and electrophoretic techniques. Alterations in non-thyroidal illness.
J. Clin. Invest., 1963, 42, 1769 - 1782.
- (69) OPPENHEIMER J.H., SURKS MI. - Determination of free thyroxine in human serum : A theoretical and experimental analysis.
J. Clin. Endocr., 1964, 24, 785 - 793.
- (70) PAGES R.A., ROBBINS J., EDELHOCH H. - Binding of thyroxine and thyroxine-analogs to human serum prealbumin.
Biochemistry, 1973, 12, 2773 - 2779.
- (71) PAIN R.W. - In vitro testing of thyroid function : a review
Pathology, 1975, 7, 1 - 12.

- (72) PETEK W., Nachweis einer typenspezifischen Microheterogenität des humanen thyroxine-bindenden globulins durch isoelektrische Fokussierung.
J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 1979, 17, 105 - 110.
- (73) PETERMANN M.L., ROBBINS J., HAMILTON M.G. Sedimentation of the thyroxine binding protein serum in the partition cell.
J. Biol. Chem., 1954, 208 - 369.
- (74) PREMACHANDRA B.N., PERLSTEIN I. , ELUMENTHAL H.T., Studies on obesity II Slow moving thyroxine binding globulin in the sera of normal and obese subjects.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 1970, 30, 752 - 762.
- (75) RASK L., PETERSON P.A. In vitro uptake of vitamin A from the retinol binding plasma protein to mucosal epithelial cells from the monkey's small intestine.
J. Biol. Chem., 1976, 251, 6360 - 6366.
- (76) RAZ A., GOODMAN D.S. - The interaction of thyroxine with human plasma pre-albumin and with the prealbumin retinol binding protein complex.
J. Biol Chem. 1969, 244, 3230 - 3237.
- (77) REFETOFF S., FANG V.S., MARSHALL J.S. - Studies on human thyroxine-binding globulin (TBG) : IX some physical, chemical and biological properties of radioiodinated T.B.G. and partially desialyted T.B.G.
J. Clin. Invest. 1975, 56, 177 - 187.

- (78) REFETOFF S., FANG V.S., MARSHALL J.S., ROBIN N.I. - Metabolism of thyroxine binding globulin in man. Abnormal rate of synthesis in inherited thyroxine binding globulin deficiency and excess.
J. Clin. Invest., 1976, 57, 485 - 495.
- (79) REFETOFF S., HAGEN S.R., SELENKOW H.A. - Estimation of the T4 binding capacity of serum TBG and TBPA by a single load ion exchange resin method.
J. Nucl. Med. 1972, 13, 2 - 12.
- (80) REFETOFF S., ROBIN N.I., FANG V.S. - Parameters of thyroid function in serum of 16 selected vertebrate species : A study of PBI, serum T4, free T4 and the pattern of T4 and T3 binding to serum proteins.
Endocrinology 1970, 86, 793 - 805.
- (81) REFETOFF S., SELENKOW H.D., Familial thyroxine-binding globulin deficiency in a patient with Turners"s syndrome (xo) genetic study in a kindred.
N. Engl. J. Med., 1968, 278, 1081 - 1087.
- (82) ROBBINS J. - Reverse - flow zone electrophoresis : method for determining thyroxine-binding capacity of serum protein.
Arch. Biochem. Biophys., 1966, 63, 461 - 469.
- (83) ROBBINS J., PETERMANN M.L., RALL J.E., Electrophoresis of the thyroxine binding protein of serum at pH 4,5.
J. Biol. Chem., 1955, 212, 403 - 410.

- (84) ROBBINS J., RALL J.E. II Hormone transport in circulation - The interaction of thyroid hormones and protein in biological fluids.
Rec. Prog. Horm. Res., 1957, 13, 161 - 208.
- (85) ROBBINS J. RALL J.E. - Proteins associated with the thyroid hormones.
Physiol. Rev., 1960, 40, 415 - 489.
- (86) ROBERTS R.C., NIKOLAI T.F. - Détermination of thyroxine-binding globulin A simplified procedure utilizing dextran-coated charcoal.
Clin. Chem., 1969, 15, 1132 - 1140.
- (87) ROCHE J., ANDREOLI M., SALVATORE G. - Interaction hormones thyroïdiennes, protéines plasmatiques et transport sanguin des hormones.
Ann. Biol. Clin. 1967, 25, 597 - 618.
- (88) RUDORFF V.K.H., HERRMANN J., KROLL H.J., KRUSKENPER H.L. - Bestimmung des thyroxin-bindenden globulin (TBG) mit hilfe des competitive ligand-binding assay (CLBA) : methodik und Ergebnisse.
J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 1976, 14, 31 - 36.
- (89) SAKURADA T., YAMAGUCHI T., YAMAMOTO M., DEMURA R., AIDA M. ONODERA S., YOSHIDA K., SAITO S., OHUGHI H., MINAKUGHI S. - Effect of estrogen on serum total and free thyroxine and triiodothyronine in a thyroxine-binding globulin deficient family.
Tohoku J. Exp. Med. , 1974, 112, 35-46
- (90) SAKURADA T., YAMAGUCHI T., YOSHIDA K., YAMAMOTO M., ONODERA S., SAITO S., Kinetics of thyroxine and triiodothyronine in a case of thyroxine binding globulin deficiency with hypothyroidism.
Tohoku J. Exp. Med., 1974, 112, 133 - 140.

- (91) SE/L U.S. DOE R.P., Purification and properties of a thyroxine-binding globulin.
Fed. Proc. 1962, 21, 215.
- (92) SEAL U.S., DOE R.P., Purification some properties and composition of the corticosteroid and thyroxine-binding globulins from human serum. Proceeding of the second international congress of endocrinology.
Excerpta Medica international congress series n° 83.
London August, 1964, 325 - 328.
- (93) SNYDER S.M., CAVALIERI R.R., GOLDFINE I.D., INGBAR S.R., JORGENSEN E.C.
binding of thyroid hormones and their analogues to thyroxine-binding globulin in human serum.
J. Biol. Chem. 1976, 251, 6489 - 6494
- (94) STEINER R.F., ROTH J., ROBBINS J. - The binding of thyroxine by serum albumin as measured by fluorescence quenching.
J. Biol. Chem., 1966, 241, 560, 567.
- (95) STERLING K. , HAMADA S., TAKEMURA Y., BRENNER M.A., NEWMAN E.S., INADA M.
.. Preparation and properties of thyroxine binding alpha globulin (TDG)
J. Clin. Invest., 1971, 50, 1758 - 1771.
- (96) STERLING K., ROSEN P., TABACHNICK M. - Equilibrium dialysis studies of the binding of thyroxine by human serum albumin.
J. Clin. Invest., 1962, 41, 1021 - 1030.

- (97) TABACHNICK M. - Thyroxine protein interactions. IV Thermodynamic values for association of thyroxine with human serum albumin.
J. Biol. Chem., 1967, 242, 1646 - 1650.
- (98) TABACHNICK M., KORCEK L., PARL F. Interaction of thyroid hormones with purified human thyroxine binding globulin.
Fed. Proc. , 1975, 34, 321.
- (99) TANAKA S., STARR P. - Clinical observation on serum globulin thyroxine binding capacity, usigg a simplified technique.
J. Clin. Endocrinol. Metab., 1959, 19, 84 - 91.
- (100) TATA J.R. - The purification of thyroxine-binding globulin and thyroxine binding prealbumin.
Clin. Chim. Acta, 1961, 6, 819 - 832.
- (101) TREVORROW V. - Studies on the nature of iodine in blood.
J. Biol. Chem., 1939, 127, 737.
- (102) TRITSCH G.L., RATHKE C.E. TRITSCH N.E., WEISS CM - Thyroxine binding by human serum albumin
J. Biol. Chem., 1961, 236, 3163 - 3167.
- (103) VANNOTTI A., BERAUD T. - Transport plasmatique des hormones thyroïdiennes.
Exp. Ann. Bioch. Med., 1959, 21, 57.
- (104) VILLE G.
Thèse doctorat d'Etat en Pharmacie - LYON, 1969.

- (105) WACHECK W., HOECHST M.G. : results of a multicentre clinical study of a new radioimmunoassay for TBG.
Ann. Endocrinol., 1977, 38, 10A.
- (106) WOEBER K.A., INGBAR S.H. - The contribution of thyroxine-binding prealbumin to the binding of thyroxine in human serum as assessed by immunoadsorption.
J. Clin. Invest., 1968, 47, 1710 - 1721.

